

水産総合研究センター 研究報告

38

平成26年 3 月

**BULLETIN OF
FISHERIES RESEARCH AGENCY**

No. 38
March 2014

NOAA IRC Library
Pacific Islands Fisheries Science Center
Received 10 Jun. 2014


Fisheries Research Agency

独立行政法人 水産総合研究センター
神奈川県横浜市
FISHERIES RESEARCH AGENCY
Yokohama, Kanagawa, Japan



Digitized by the Internet Archive
in 2026

水産総合研究センター研究報告

第38号

平成26年 3 月

目 次

(博士号論文)

親クルマエビの養成と採卵技術の開発に関する研究

崎山一孝 1

(総説)

水産資源研究のための数学特論

赤嶺達郎 43

(シンポジウム)

Reports on Advancing Comparative Ecological Studies of Early Life History and Recruitment Strategy of Bluefin Tunas and Related Species, and Effects of Environmental Changes on Fluctuations of Oceanic Top Predators

A. García, D. Cortés, J. Quintanilla, F. Alemany, L. Quintanilla, J.M. Rodríguez,
T. Ramírez, S. Sponaugle, K. Satoh, M. Masujima, Y. Tanaka, M. Okazaki,
N. Suzuki, T. Tanabe, K. Nohara, W. Doi, H. Ashida, T. Kameda, Y. Aonuma,
B. Muhling, Y. Liu, S-K. Lee, J. Lamkin, W. Ingram, R. Laiz-Carrión, J.M. Quintanilla,
A. Pérez-Torres, J.M. Logan, E. Rodríguez-Marín, N. Goñi, S. Barreiro,
H. Arrizabalaga, W. Golet, M. Lutcavage, Y. Kanaji, T. Miyashita, S. Yonezaki,
M. Kiyota, Y. Kato, T. Wakabayashi, M. Sakai, K. Segawa, O. Sakai, T. Itoh,
H. Fukuda, S. Torisawa, T. Takagi 61

親クルマエビの養成と採卵技術の開発に関する研究^{*1}

崎山 一孝^{*2}

Study on the Technology of the Culture and Spawning Control of Kuruma Prawn *Marsupenaeus japonicus*

Kazutaka Sakiyama

目 次

親クルマエビの養成と採卵技術の開発に関する研究

第1章 緒言 1

第2章 素堀り池を利用したクルマエビの養成技術

第1節 素堀り池でのクルマエビの計数と捕獲方法

第2節 養成したクルマエビの成長と生残

第3節 養成したクルマエビの成熟と産卵

第4節 ウイルスフリー親エビの養成

第3章 採卵に適した親クルマエビの評価技術

第1節 卵影による成熟度評価

第2節 血液成分による親エビの適正評価

第3節 摂餌量による親エビの適正評価

第4章 親クルマエビの産卵コントロール技術

第1節 低水温処理による産卵コントロールの条件
の検討

第2節 産卵コントロール方法による実証採卵試験 0

第5章 総合考察

図 表

謝 辞

引用文献

第1章 緒言

クルマエビ *Marsupenaeus japonicus* は本州以南から太平洋, インド洋の暖かい海に分布し, 我が国ではイセエビと並ぶ高級なエビである。また, 商業規模で養殖生産されている唯一の甲殻類であり, 西日本を中心に塩田跡地の素堀り池や築堤を利用した養殖が盛んに行われている。クルマエビは養殖対象種であると同時に, 重要な栽培漁業対象種であり, 本種の資源の増殖

と安定化を目的として, 毎年, 全国で約2億尾が放流されている。

クルマエビの養殖と栽培漁業が飛躍的に発展した背景には, 藤永 (1942) による種苗育成に関する試験研究の成果が発端となり, 1960年代に大量種苗生産技術が確立し (茂野1969; 橘高1971), その後, 配合飼料の開発に関する研究や (金澤ら1970; Teshima et al. 1973; koshio et al.1989), 疾病防除に関する調査研究 (桃山1982; 桃山1988) が進められた経緯がある。

ところが, クルマエビの種苗生産では, 採卵に使用される親エビの確保は, 未だに, そのほとんどを天然で漁獲される成熟エビに依存している。天然エビは, 成熟した個体であっても, 飼育下で産卵する割合は低く (松永1978), 日本栽培漁業協会志布志事業場 (現水産総合研究センター増養殖研究所志布志庁舎) で過去33年間の平均産卵個体率はおよそ40%にとどまっている (加治・今泉2003)。また, 天然エビにはクルマエビ類の急性ウイルス血症 (Penaeid Acute Viremia; PAV) の原因ウイルスである PRDV (Penaeid Rod-shaped DNA Virus) に感染している個体が含まれていることがある (虫明ら1998)。したがって, クルマエビの親エビが天然親エビに依存している現状では, 入手できる親エビの数は漁獲量と成熟個体の出現率, およびウイルス感染率の影響を受け, 種苗生産の現場では慢性的な親エビ不足となっている。

クルマエビの種苗生産では, 健全な親エビの安定確保が重要な課題であることから, 未成熟個体を人為的に成熟させるための調査研究が進められてきたが, クルマエビは人工飼育条件下では成熟個体を得ることは難しく (Yano 1995), また, 成熟個体でも産卵しなければ, 数日以内に卵巣卵 (卵母細胞) が崩壊するため

2014年1月8日 (Received on January 7, 2014)

^{*1} 長崎大学審査学位論文 (掲載するに際し投稿規定に沿って一部修正した)

^{*2} 瀬戸内海区水産研究所百島庁舎 〒722-0061 広島県尾道市百島町1760 (Momoshima Station, National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, Fisheries Research Agency, Momoshima, Onomichi, Hiroshima, 722-0061, Japan)

(今ら 1982), クルマエビ類の卵成熟および産卵についての研究は少ないのが現状である (Huberman 2000; 田原2002)。

甲殻類の催熟方法として, 眼柄の除去やゴカイ類の給餌に効果があることが報告されている。眼柄は卵黄形成抑制ホルモン (VIH) の生産および貯蔵部位であると考えられ, 眼柄を切除または結紮することによりホルモンの作用が制限され, 卵巣の成熟が促進するとされている。しかし, VIH の存在が明らかにされたのは, アメリカンロブスター *Homarus americanus* (Soyez et al. 1987) やミナミイセエビ *Jasus lalandii* (Marco et al. 2002) だけで, クルマエビ類では明らかにされていない。また, 眼柄処理の効果はクルマエビの近縁種である *Penaeus* 属のエビ類では効果的であるが, クルマエビでは処理後の死亡率が高く, 得られた卵の質やふ化率の低下が問題とされている。

ゴカイ類の給餌による成熟促進効果は, クルマエビだけでなく, *Penaeus* 属の *Penaeus kerathurus*, *P. setiferus* にも認められている (Brown et al. 1979; Luis and Ponte 1993)。また, カレイ類においても同様の効果が知られており, Nereis 効果と呼ばれている。ゴカイ類の栄養学的な研究を行った Croz ら (1988) は *P. vannamei* を成熟させるために補助的に給餌しているナナテイソメ科の *Americanuphis reesei* の成分を分析し, プロスタグランジンやその前駆物質が多量に含まれていることを明らかにした。プロスタグランジンはアラキドン酸 (C20:4 ω 6) のような炭素20個の不飽和脂肪酸を材料として動物組織で生成される生理活性物質であり, 魚類では排卵促進や性フェロモンとして作用し, 生殖に関連する物質である。また, Luis & Ponte (1993) は *P. kerathurus* への成熟促進効果が見られた *Nereis diversicolor* の成分を分析したところ, リノール酸 (C18:2 ω 6) とリノレン酸 (C18:3 ω 3) が多く含まれていることから, *Nereis* 効果はこれらの成分によるものであると推察した。

眼柄処理とゴカイ給餌が効果をもたらしメカニズムは科学的に十分解明されていないが, クルマエビの成熟促進手法として有効であることは事実であり, この技術を, 大量の受精卵を必要とするクルマエビの種苗生産の現場へ普及させるための技術開発が必要である。そこで, 日本栽培漁業協会百島事業場 (現 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター) では, 1979年から塩田跡を改造した素掘り池を用いてクルマエビの親養成試験を行い, 種苗生産用親エビの大量確保を目的に稚エビから親エビまでの一貫した養成技術の開発に取り組んできた。さらにウイルスを保有しない健全な親エビ

の養成を行い, 毎年雌雄合わせて5,000～7,000尾の親クルマエビの生産が可能となっている。これを実現する過程で実施してきたいくつかの研究成果をとりまとめたものが本論文である。

クルマエビの種苗生産では, 1生産機関あたり1回の生産で数百万個体の幼生を必要とする。そのためには, まとまった数の親エビを入手し, 産卵を同調させる技術が必要である。しかし, 養成エビと天然エビのいずれにおいても, 親エビの産卵をコントロールし, 任意の日に同調して産卵させる技術は開発されていない。

そこで本研究では, 採卵に使用する成熟した親エビを量的かつ安定的に確保するために, 塩田跡地を改良した屋外池を利用した親クルマエビの養成試験を実施し, 屋外池で親エビを養成するための条件の解明と, ウイルスを保有していない親エビ養成の可能性について検討した (第2章)。また, 屋外池で養成した親エビの中から, 高い確率で産卵する個体を選別するために, 親エビの成熟度を簡易かつ客観的に判定する技術を開発した (第3章)。さらに, 種苗生産の現場で利用可能な産卵コントロールの技術開発に取り組み, 十分な数の親エビを確保した時点で, 同調的に産卵させる技術を開発した (第4章)。最後に, 親エビの養成と採卵に関する研究結果をもとにクルマエビの種苗生産機関で利用可能な技術マニュアルとして記した (第5章)。

第2章 素掘り池を利用したクルマエビの養成技術

本研究でクルマエビの親養成試験に使用した施設の概要と, 稚エビの由来および素掘り池での親エビの養成方法を以下に記す。

養成施設 試験に用いた3つの養成池を Fig. 1に示す。池の底面積は, 1号池は約11,000 m² (1997年に整備し, 現在は5,200 m²), 2号池と3号池は約7,500 m² (2004年と2006年に整備し, 現在は5,200 m²) であり, 各池とも最大水深は約2 m で底質は砂泥である。

養成池の換水は以下の方法で行った。まず, 満潮時に外海水を調整池に取り入れ, 調整池からは注水口側のゲート弁の開閉により注水した。排水は引き潮を利用し, 排水口側のゲート弁の開閉により排水量を調整した。この方法での1日の換水率は, 養成池水位の変化量から40～60%と見積もられた。注水口にはクルマエビの成長に合わせて0.8～5.3 mm 目合の仕切網を設置し, 大型魚介類等の害敵生物の侵入を防止した。池内には攪水機 (桜川ポンプ製) 2基を設置し, 海水の攪拌と酸素の供給を行った。

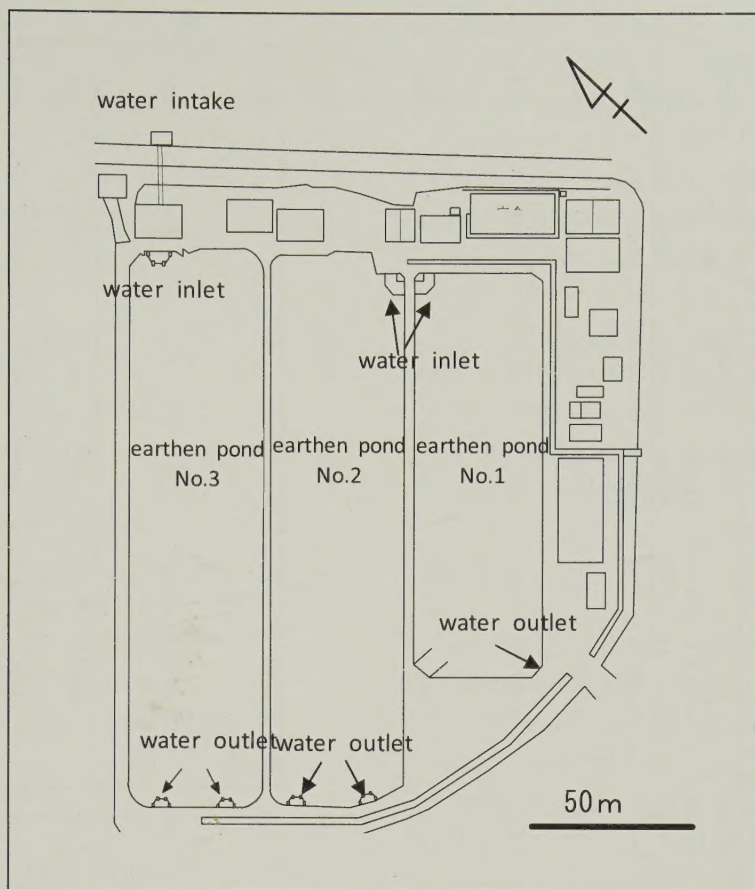


Fig. 1. Experimental earthen ponds used for the rearing of Kuruma prawn broodstock at Research Center for Marine Invertebrates, National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea.

養成試験に使用した稚エビの由来 1993～2002年にを行った6例の養成試験に使用した稚エビの由来をTable 1に示す（以下、93年群～02年群と称す）。93年群と94年群は愛媛県伯方町の民間養殖場で天然親エビを用いて種苗生産されたもの、95～97年群は日本栽培漁業協会百島事業場（現、瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター）で養成した1歳エビを親エビとして同場で種苗生産したものである。また、99年群は大分県鶴見産の天然親エビを用いて日本栽培漁業協会上浦事業場（現、増養殖研究所上浦庁舎）で種苗生産して得たものである。00年群と01年群は、99年群から採卵し種苗生産した稚エビを使用した。02年群は99年群と同様に大分県鶴見産の天然親エビを用いて日本栽培漁業協会上浦事業場（現、増養殖研究所上浦庁舎）で種苗生産したものである。93年群、94年群および99～02年群の稚エビの輸送には1 kLと0.5 kLのポリエチレン製水槽を用い、酸素とブローアによる通気を行った。輸送した稚エビは輸送タンクから直接当

センターの素掘り池へ収容した。収容時のクルマエビの平均体長20.7 mm (93年群)～50.0 mm (01年群)、1池あたりの収容尾数は2.3万尾 (99年群)～6.0万尾 (94年群)であった。

クルマエビの養成方法 稚エビの収容は、93～95年群では5月に行い、その後、1歳まで養成した。96年群と99年群は7月に収容し、2歳まで養成した。97年群は8月末に収容し、1歳まで養成した。00年群は8月に収容し、2歳まで飼育した。01年群は8月に、02年群は7月にそれぞれ収容し、1歳まで飼育した。稚エビ収容時の水温は、93～95年群では18～20℃、96年群と99年群では25～29℃、97年群、00年群～02年群では29℃であった。

93～97年群の餌料には冷凍イカとアミ類の細片、および市販のクルマエビ用配合飼料（ヒガシマル製または協和発酵製）を用いた。99～02年群には配合飼料のみを与えた。いずれの飼育年次でも、給餌は1日に1

Table 1. Production of Kuruma prawn in earthen ponds juveniles were originated from wild caught and artificially reared broodstock

Batch	Origin	Pond	Initial			At harvest				Feeding amount				
			Date	Number	Body length (mm)	Body weight (g)	Rearing period (day)	Number	survival (%)	Body length (mm)	Body weight (g)	Raw diet (kg)	Artificial diet (kg)	
1993	Wild	No.1	1993.5.1	40,000	20.7	0.11	587	1994.12.9	5,000	27.4	180.1	72.0	5,413	7,186
1994	Wild	No.2	1994.5.7	60,000	25.0	0.18	462	1995.10.5	7,600	7.7	170.7	63.0	8,450	5,544
1995	Wild	No.3	1995.5.12	53,000	27.6	0.17	478	1996.9.1	2,500	12.2	176.2	68.3	9,345	6,011
1996	Artificially- reared*	No.2	1996.7.22	39,000	30.6	0.30	385	1997.8.11	5,500	25.0	177.6	76.0	2,795	3,543
1997	Artificially- reared*	No.3	1997.8.29	25,000	36.0	0.18	357	1998.8.21	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1999	Wild	No.3	1999.7.2	23,000	40.2	0.66	678	2001.5.10	1,700	15.3	175.2	66.7	0	2,595
2000	Artificially- reared*	No.2	2000.8.31	30,000	34.0	0.45	653	2002.6.15	1,600	6.3	178.0	72.7	0	2,455
2001	Artificially- reared*	No.3	2001.8.24	20,000	50.0	1.60	340	2002.7.30	2200*	11.0	159.3	52.8	ND	ND
2002	Wild	No.2	2002.7.24	40,000	30.3	0.30	428	2003.9.25	12000*	30.0	167.8	60.1	ND	ND

*estimated by Quadrat method

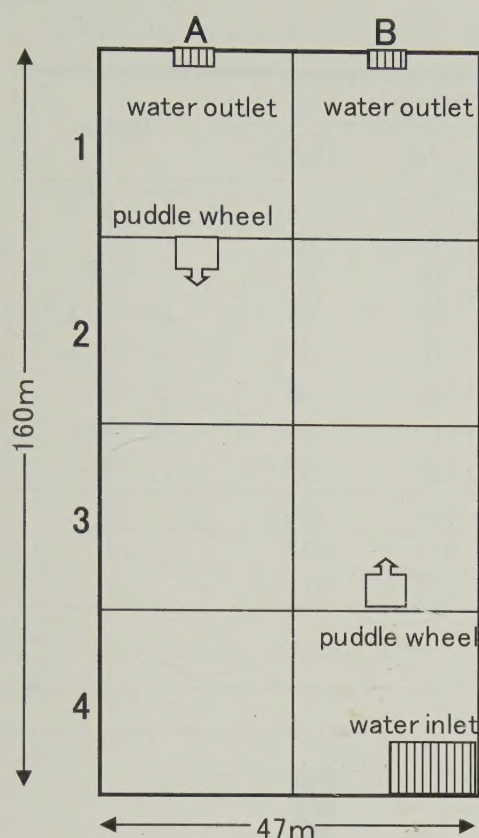


Fig. 2. Experimental pond for stocking Kuruma prawn broodstock, composed of eight partitioned blocks (A1 ~ 4, B1 ~ 4).

回夕方に行い、給餌量は前日の残餌の状況をもとに適宜増減した。なお、水温が15℃以下になる12月末～翌年3月末までは摂餌が見られないため給餌しなかった。

第1節 素掘り池で養成したクルマエビの捕獲方法の検討

素掘り池を用いて養成した親クルマエビの成長と成熟度の調査、採卵用の親エビの確保にはカゴ網が使用される。しかし、捕獲されるクルマエビの個体数はカゴ網の設置場所により、また、捕獲日によっても大きく変動するため、常に試験に必要な尾数が確保されるとは限らない。そこで本試験では、カゴ網を用いて十分な数のクルマエビを効率よく捕獲するために、カゴ網の設置場所と設置方法について検討した。

材料と方法

供試エビ 試験には、99年群の1歳エビ（平均体長153mm）を用いた。

クルマエビの捕獲方法の検討 クルマエビを捕獲する

ために市販のカゴ網（ドーム型、86×56×46cm、入口1カ所）を使用した。捕獲調査では、2号実験池を東西2列（A、B）、南北4列（1-4）の合計8ブロックに区切り（Fig. 2）、冷凍サンマの切り身を入れたカゴ網を各ブロックに4個ずつ約10m間隔で投入した。カゴ網の投入は16時～17時、回収は翌日9時～10時に行った。カゴ網による捕獲調査は2000年6月20日、6月27日、7月4日、7月11日および7月18日の5回行い、ブロックごとの捕獲尾数を調査した。また、池内に設置した2機の攪水機による水流と、カゴ網による捕獲尾数との関係を明らかにするために、各ブロックに入口が水流に向いたカゴと、反対に向いたカゴを2個ずつ設置し、両者の捕獲尾数を比較した。

結果

カゴ網による捕獲調査の結果をTable 2に示す。1回の調査での捕獲尾数は、187～717尾（平均 322 ± 227 尾、変動係数0.706）と調査日により大きく異なり、7月以降の捕獲尾数が増加した。また、ブロックごとの平均捕獲尾数は17～61尾（平均 40 ± 13.8 尾、変動係数0.343）と、ブロックにより大きく異なった。そこで、このデータをもとにして、カゴ網の設置場所により捕獲尾数に差があるかどうかを分散分析法により検定したところ有意差（ $p=0.04$ ）が認められた。続いて、エビが良く取れる場所を特定するために、各ブロックの捕獲尾数をもとにして、以下の式により求めた値を捕獲指数とした（Fig. 3）。なお、この指数が高いほどクルマエビが獲れやすい場所であることを表す。

捕獲指数 = $\frac{(\text{捕獲尾数} - \text{捕獲尾数の平均})}{\text{標準偏差}}$

池の中央部より注水口側であるA3とA4、およびB3の捕獲指数は0.48、0.46および1.01であり、いずれも他のブロックより値が高く、クルマエビを捕獲しやすい場所であると推察された（Table 3）。一方、海水の流入が多く水質環境が良好であると考えられる注水口（B4）の捕獲指数は-1.34と最も低く、エビが獲れ難い場所であると判断された。

水流に対するカゴの入口の向きと捕獲尾数との関係（Table 4）については、水流向きと反水流向きのカゴの平均捕獲尾数は、それぞれ3.6尾（0～18尾）と4.0尾（0～18尾）であり、両者に有意差（ $p=0.905$ 、Wilcoxon符号付順位和検定）は認められなかった。

考察

クルマエビの捕獲尾数が時期により異なった理由と

Table 2. Number of captured Kuruma prawn using cage

Partition	Number of captured individuals					Average
	20 June	27 June	4 July	11 July	18 July	
A1	28	10	19	44	82	37 ± 28.3
A2	23	28	2	43	136	46 ± 52.1
A3	32	30	13	58	119	50 ± 41.5
A4	43	26	33	39	95	47 ± 27.4
B1	8	34	27	48	21	28 ± 14.8
B2	29	18	36	25	70	36 ± 20.3
B3	27	44	46	47	141	61 ± 45.4
B4	3	4	11	16	53	17 ± 20.5
Total	193	194	187	320	717	322
Average	24.1	24.3	23.4	40.0	89.6	40.3
SD	12.9	13.0	14.7	13.4	41.7	13.8

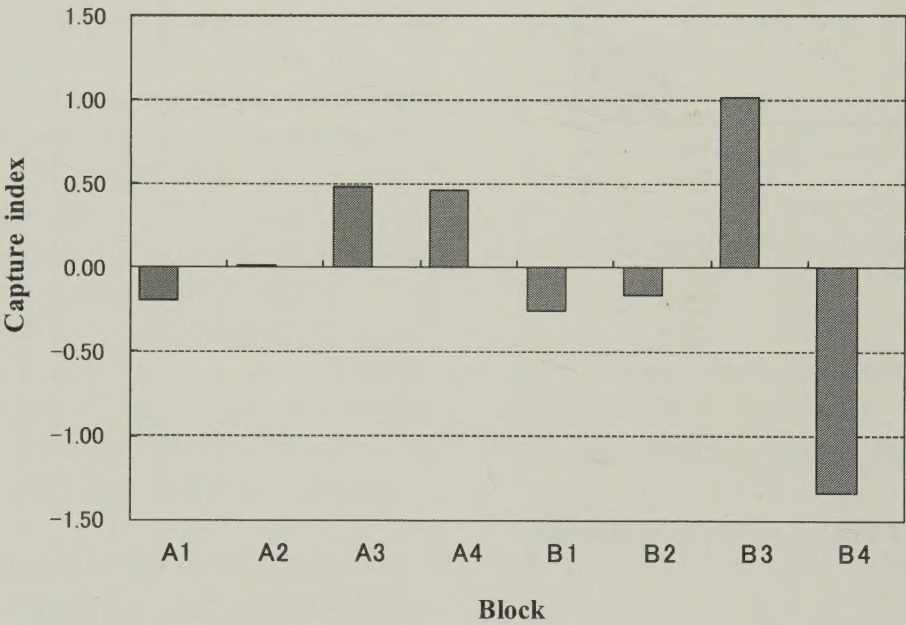


Fig. 3. Capture index value in each block of an earthen pond.
Capture index = [(number of catch in each block - average catch)/standard deviation]

して水温の影響が考えられる。池内の水温が上昇すると、クルマエビの索餌行動が活発になり、カゴ網への入網尾数が増加したと考えられた。

クルマエビの捕獲尾数は場所により異なることが明らかになった。素掘り池のクルマエビを効率よく捕獲するためには、カゴ網は池の中央から注水口側の範囲(注水口付近は除く)に設置した方がよく (Fig. 4)、カゴ網の入り口の向きには注意を払う必要は無いものと判断された。

クルマエビの捕獲数が場所によって偏りが見られた原因として、実験池への注水が満潮時に注水口から外海水が取り入れられることから、実験池内の水温と底質、水の流れは場所により異なり、これらの要因がクルマエビの分布に影響を及ぼし、カゴ網への入網尾数が不均一になった可能性がある。

Table 3. Capture index* observed in each block

Block	Number of catch on different date					Average
	20 June	27 June	4 July	11 July	18 July	
A1	0.30	-1.09	-0.29	0.30	-0.18	-0.19
A2	-0.09	0.29	-1.45	0.22	1.11	0.02
A3	0.61	0.45	-0.70	1.34	0.71	0.48
A4	1.47	0.14	0.66	-0.07	0.13	0.46
B1	-1.25	0.75	0.25	0.60	-1.65	-0.26
B2	0.38	-0.48	0.86	-1.12	-0.47	-0.16
B3	0.22	1.52	1.54	0.52	1.23	1.01
B4	-1.64	-1.55	-0.84	-1.79	-0.88	-1.34

*Catch index= [(number of catch in each block-average catch)/standard deviation]

Table 4. Relationship between direction of net trap mouth and number of caught prawn.

No. of net trap	Direction of net trap mouth	
	Along water current	Against water current
1	7	9
2	3	13
3	2	0
4	6	0
5	3	0
6	18	18
7	2	1
8	3	3
9	2	0
10	0	0
11	0	2
12	1	0
13	5	4
14	6	6
15	0	2
16	0	6
Average	3.6	4.0
Standard deviation	4.47	5.32

第2節 養成したクルマエビの成長と生残

素掘り池を利用して、採卵用の親クルマエビを量的かつ安定的に確保するためには、池内でのクルマエビの飼育管理技術が必要である。本節では、1993年～1999年の間に実施した6例の親エビ養成の試験結果から、素掘り池でのクルマエビの成長と生残状況を明らかにし、稚エビの適正な収容時期、給餌方法や生残尾数の推定方法等の飼育管理技術を開発することを目的とした。

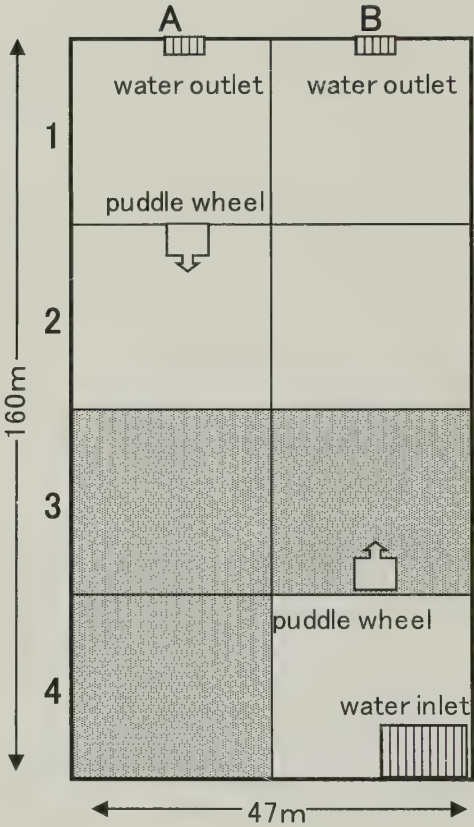


Fig. 4. Partitioned blocks to catch broodstock Kuruma prawn by net trap in experimental earthen pond (A-3, -4 and B-3).

材料と方法

供試エビ 試験には93年群～99年群を使用した。
環境調査 2号養成池の環境調査として、毎日9時頃

に池内の注水口表層の水温、pH、塩分、および溶存酸素量（以下、DO）を測定した。

成長測定 成長の調査のため、前節に基づいて、カゴ網による捕獲を月に1～2回行い、体長、頭胸甲長、および体重を測定した。また肥満度を体重（g）／体長（mm）³×10⁶より求めた。低水温のためクルマエビをカゴ網で捕獲できない1～3月は測定しなかった。

なお、クルマエビの年齢については、養成を開始した年の12月31日までを0歳、翌年1月1日から1歳、翌々年1月1日から2歳とした。

取り揚げと生残尾数の推定 全個体の取り揚げによる計数を、93～96年群では1歳の8月に、99年群では2歳の5月に行った。なお、成熟と産卵試験に供するための捕獲を不定期に行ったため、生残率は養成期間中の死亡率を一定と仮定して算出した。また、97年群は96年群（1歳）と混養したため、両者の区別が困難で、生残率を推定できなかった。

養成期間中の生残尾数を推定するため、99年群1、2歳エビでは、潜水によるコドラート法による計数を行った。調査は2000年6月～2001年5月に毎月1回行い、養成池内に設けた24カ所の定点から1 m 枠内の平均尾数と養成池の面積（7,500 m²）から生残数を推定した。0歳エビは体サイズが小さく、潜水で目視による確認ができないため、尾数の推定は行わなかった。

結 果

飼育環境 99年群の養成期間中における水温、pH、および塩分の変化をFig. 5に示す。

年間の水温変動は、7～8月が最も高く30℃に達し、1～2月が最も低く10℃以下となった。この傾向は他の年でも同様であった。養成池の換水は潮の干満差を利用していることから止水時間が長いために、養成池の水温は外気温の影響を受け易い。そのため93年は7～8月の平均水温が28℃以下に、逆に94年は30℃以上の高水温期が約2ヶ月間続いた。また、97年は4～5月に水温が急激に上昇するなど、年によって季節的な変動傾向に差が認められた。

pHは7～9、塩分は30～35 psuの間にあり、両者ともに顕著な季節変動は認められなかった。また、DOは2～8 mg/Lの範囲にあり、夏期は低く冬期に高くなる傾向が認められた。

成 長 生餌と配合飼料を併用した93年群と、配合飼料単独で養成した99年群の成長をFig. 6に示す。両群とも0歳での成長が速く、12月時点の平均体長は93年群で雌151.9±9.5 mm、雄137.0±5.6 mm、および99年群では雌151.7±7.5 mm、雄138.6±5.9 mm とほとん

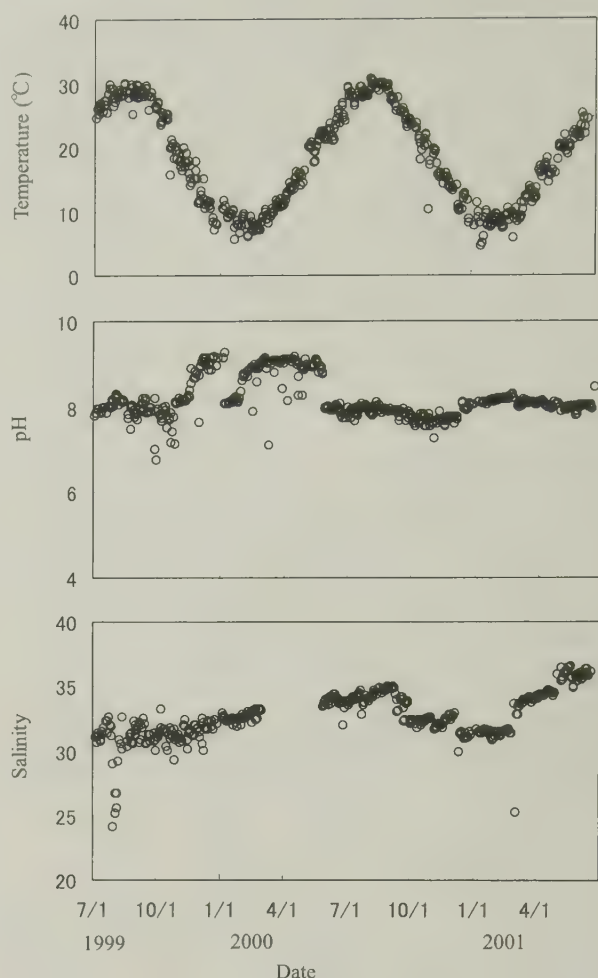


Fig. 5. Environmental conditions in earthen pond (No.2) during grow-out period of Kuruma prawn from July 1999 to June 2001.

ど同様の成長を示した。0歳の12月までの月間の平均成長速度は93年群で14.2 mm／月、99年群で20.2 mm／月となり、99年群に他の年次群より速い成長が認められた。しかし、冬期間は成長が停滞し、両群とも1歳の5月には雌の平均体長は150.4±9.8と152.8±7.3 mm、雄は138.4±4.1 mmと139.3±3.6 mmであった。他の群でも同様の傾向が認められ、1歳の5月の雌の体長は94～97年群では、それぞれ157.9±157.9 mm、160.8±3.6 mm および153.6±3.9 mm および135±19.5 mmであった。

99年群のクルマエビから相対成長を求めた。体長と頭胸甲長の関係は直線式で、体長と体重の関係は相対成長式で回帰された（Fig. 7）。また、肥満度は10～15の間で変動し、養成1年目までの雌の平均肥満度は12.7、雄は12.2であり、雌雄による有意差は認められなかった。

Fig. 5に示した99年群の0歳の成長を基に、非線形

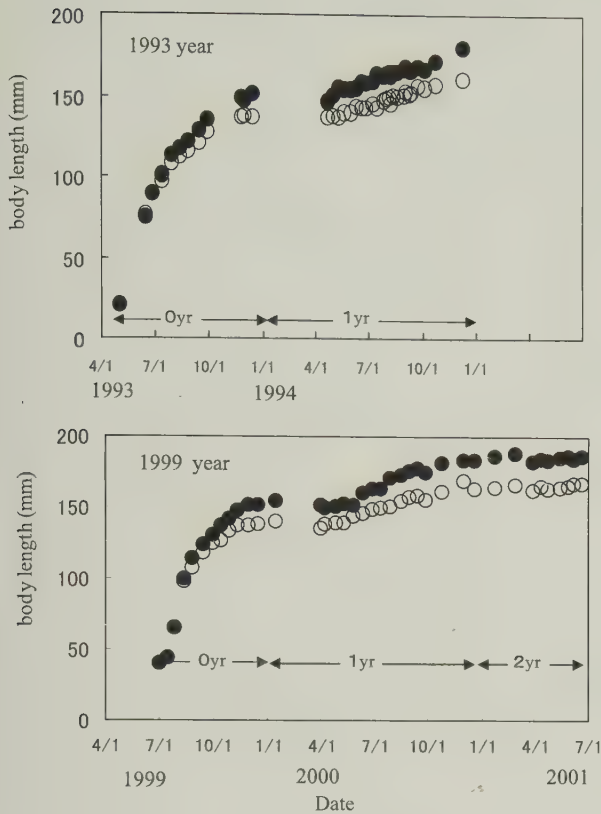


Fig. 6. Changes in growth of Kuruma prawn reared in earthen pond. Prawns were fed formulated diets and frozen raw diets, and formulated diets alone in 1993 ~ 94 and 1999 ~ 2001 trials, respectively.

● : female ○ : male

の最小二乗法により von Bertalanffy の成長式に近似させた。なお、同様の近似式を他の群についても求めた結果を表中に示す (Table 5)。これから成長量を比較すると、成長係数は稚エビの収容時期により異なり、5月に収容した93~95群では0.008~0.011、7月に収容した96年群と99年群ではそれぞれ0.009、0.016、および8月に収容した97群では0.044となり、5月から8月の間では、収容時期が遅い群ほど成長が良い傾向が示された。

成長と水温の関係を比較するために、体長と養成開始時から積算水温の関係を Fig. 8に示す。なお、各群の収容時のサイズが異なるため、体長50 mm 以上について図示した。これによると、全ての群で体長と積算水温の間に指数関数に近似される相関が認められたが、増加係数には群による差が見られた。そこで、体長50 mm が100 mm に成長する間の積算水温と収容時期との関係を見ると (Fig. 9)、夏場の高水温により積算値が高くなった94年群を除くと、各群の収容日と積算水温 (各群とも4月1日を基点として計算) の間に

は相関が見られ、収容時期が遅い群ほど積算水温が低い傾向が認められた。

生 残 養成1年後における1993~1999群の生残率は7.7~27.4%の範囲であったが (Table 1)、生残率と収容日、収容時の水温、および収容サイズとの間に関連性は認められなかった。

コドラート法で推定した99年群の生残尾数の変化を見ると (Fig. 10)、1歳の6月~12月までの生残尾数は5,000~6,800尾 (平均5,900尾) であり、収容からの減耗はほとんど認められなかった。しかし、水温が10℃以下に低下する12月から翌年3月にかけての減耗が著しく、2歳の生残尾数は3,000尾以下となった。また、養成期間を通して、アオサギやゴイサギなどの鳥類による食害も頻繁に観察された。

コドラート法による最終計数は2,100尾、それから40日後の取り揚げ法による計数は1,740尾であり、コドラート法による推定値は実数値に近い値であった。

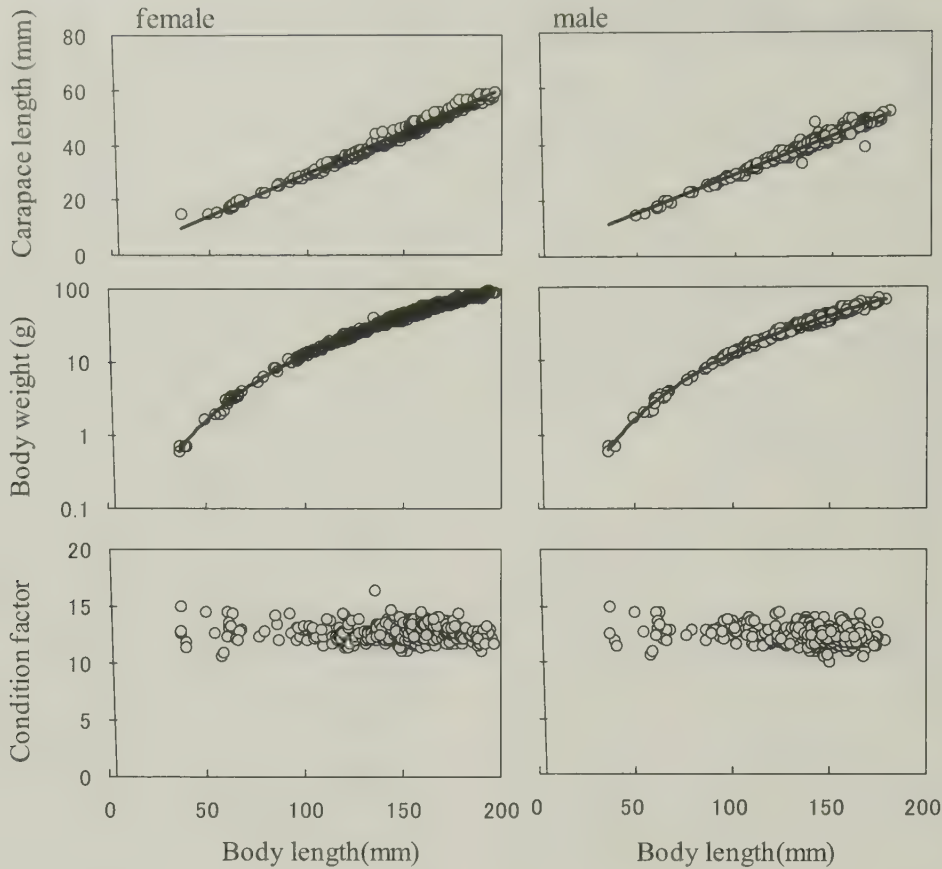
給餌量 各群の総給餌量に対する配合飼料の使用割合は、39.1% (95年群)~57.0% (93年群)であった。配合飼料のみで養成した99年群では、2年間の養成で総計2,595 kgの配合飼料を用いた。年齢別の給餌期間と給餌量は、0歳エビではそれぞれ7月2日~12月6日、1,495 kg、1歳エビでは4月12日~12月30日、650 kg、および2歳エビでは3月22日~5月10日、450 kgであった。

配合飼料の給餌量は、0歳エビでは収容から10日目までは平均4 kg/日 (1.5~5 kg/日)、単位面積当たり0.26~0.52 g/m²を与えた。また、収容尾数から推定した稚エビ1尾当たりの給餌量は0.09~0.18 g、給餌率〔給餌量/体重〕×100は26% (10~32%)であった。養成11日目からは徐々に給餌量を増加させ、22日目以降は平均12.7 kg/日 (10~15 kg/日)、単位面積あたり1.7 g (1.3~2.0 g)を与えた。

1歳エビの配合飼料投餌量は6~17 kg/日、2歳エビでは5~17 kg/日を基準としたが、給餌率は水温の変化に伴って適宜増減した。Fig. 10の推定生残尾数と給餌量から99年群の1~2歳の給餌率を求め、これと水温との関係 (Fig. 11)を見ると、給餌率は15℃では2~3%であったが、水温の上昇に伴い20~22℃では5~6%まで増加した。なお、25℃以上での給餌率は、生残尾数推定の誤差のため計算上低下した。

考 察

クルマエビの種苗生産には、1尾当りの採卵量が多い天然の大型個体 (愛知県一色産は70 g、西日本産は100 g) が使用されている (水藤 1995)。本試験では、



female : $CL=0.30 \times BL-0.81$ (n=535, $R^2=0.987$)
 $BW=2 \times 10^{-5} \times BL^{2.89}$ (n=535, $R^2=0.994$)

male : $CL=0.27 \times BL+1.52$ (n=516, $R^2=0.973$)
 $BW=2 \times 10^{-5} \times BL^{2.88}$ (n=516, $R^2=0.993$)

CL : carapace length (mm) BL : body length (mm) BW : body weight (g)

Fig. 7. Relationships between body length and carapace length, and between body weight and condition factor in Kuruma prawn of 1999 batch.

Table 5. Growth formula of 0yr Kuruma prawn reared in earthen pond.

Year		Growth formula	
1993	$Lt=160 \times (1-e^{-0.011(t+12.2)})$	n=12	$R^2=0.998$
1994	$Lt=161 \times (1-e^{-0.008(t+26.1)})$	n=18	$R^2=0.984$
1995	$Lt=185 \times (1-e^{-0.009(t+16.2)})$	n=13	$R^2=0.996$
1996	$Lt=229 \times (1-e^{-0.009(t+15.9)})$	n=8	$R^2=0.999$
1997	$Lt=123 \times (1-e^{-0.045(t+7.4)})$	n=6	$R^2=0.993$
1999	$Lt=162 \times (1-e^{-0.016(t+12.9)})$	n=13	$R^2=0.923$

t : days of rearing Lt : body length (mm) on day t

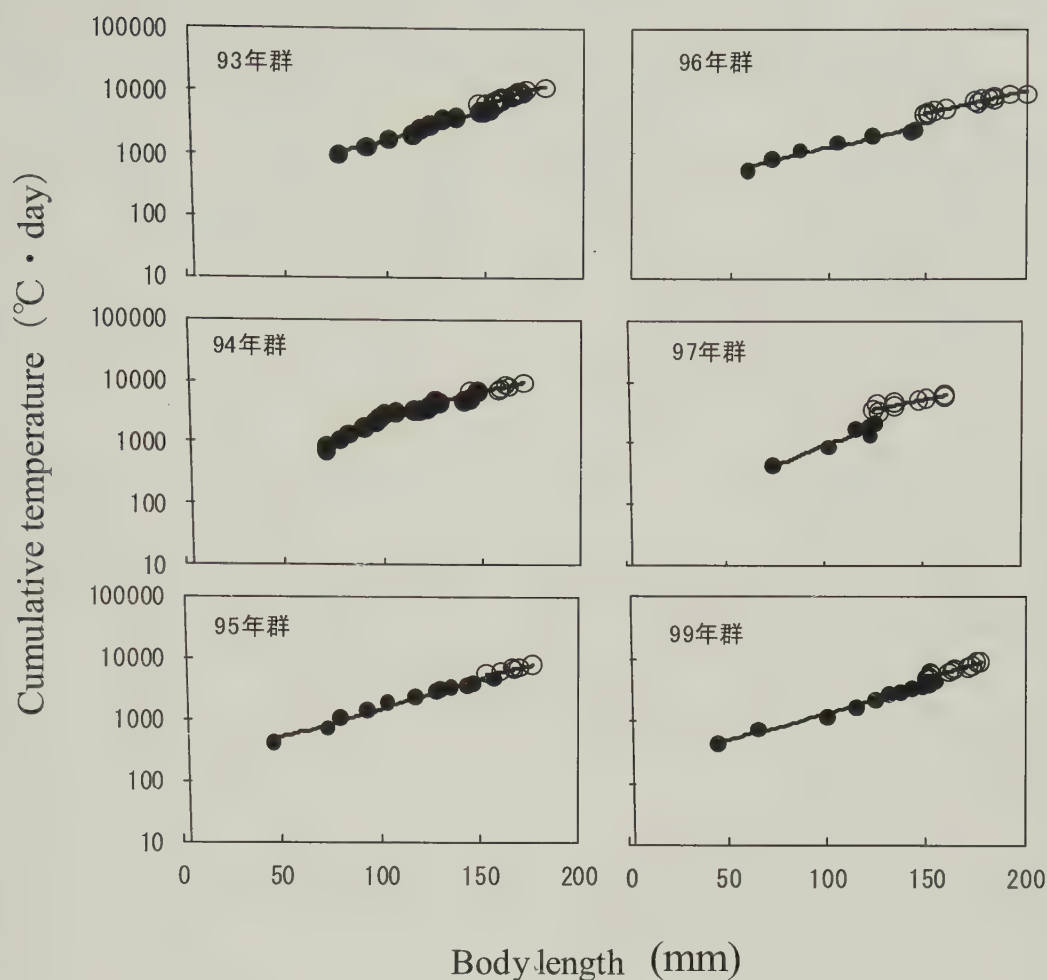


Fig. 8. Relationship between body length and cumulative water temperature.

● : 0 yr old ○ : 1 yr old

2年間の養成を行い、より大型の個体を養成するとともに、1歳エビからの産卵の可能性も検討した。今回行った6例の養成試験のうち5例で、1歳エビは5月に体長152～160 mm、体重38～53 gとなり、成熟卵巣卵を持つ雌の最小型とされている130 mm (Minagawa *et al.* 2000) 以上に達して、産卵用親エビとして充分利用可能であった。

養成池でのクルマエビの成長については、96年群では体重5 gの稚エビが約2ヵ月で25 gに達し、これは天然個体の成長 (茂野 1969) と同程度であった。しかし、他の群では、このサイズに達するのに3～5ヵ月を要し、成長が遅れる傾向が認められた。

養成池内でのクルマエビの成長には、外気温に影響される水温が最も大きな作用要因であると考えられる。特に冬期の10℃以下の低水温は成長を3ヶ月間停滞させ、さらに急激に生残率を低下させる原因となった。また、夏期の29℃以上の高水温も成長に悪影響を及ぼすことが知られており (門脇 1993)、素掘り池は

必ずしもクルマエビの成長に良い環境であるとはいえない。このため、1歳の成熟個体を得るには、成長が停滞する0歳の12月までに成熟可能な大きさに成長させておくことが重要である。稚エビ (体長20～40 mm) の収容時期は、7月までは収容時期が遅いほど初期の成長が速く、11～12月には体長140～150 mmと成熟可能な大きさに達した。一方、8月末に収容した稚エビの成長は他の群より早い、成長に適した水温の期間が短いため12月時点での平均体長は125 mmと小型であった。したがって、養成池への稚エビの収容は、遅くとも7月までに行う必要があると推察された。

給餌基準については、生餌と配合飼料を併用した飼育例では、年度により各餌の使用割合が異なり、また養成途中の生残状況を把握しなかったため明らかにすることができなかった。一方、生餌併用の飼育例と同程度の成長が得られた配合飼料の単独給餌では、摂餌状況を観察しながら投餌したときの給餌率は養成水温と密接な関係が見られ、現在の基準では15℃では体重

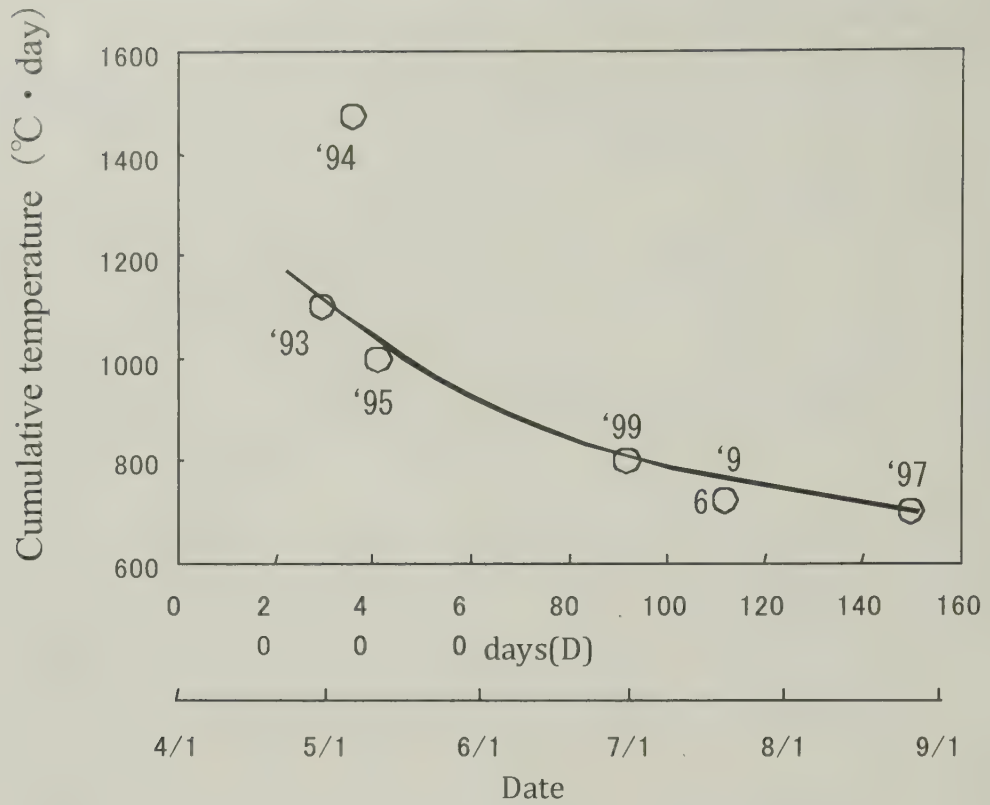


Fig. 9. Relationship between date of stocking of juvenile Kuruma prawn and the cumulative temperature during the growth from 50 to 100 mmBL.

CT : cumulative temperature D : days from 1st April

$$CT = 2882 \times D^{-0.282} (R^2 = 0.976)$$

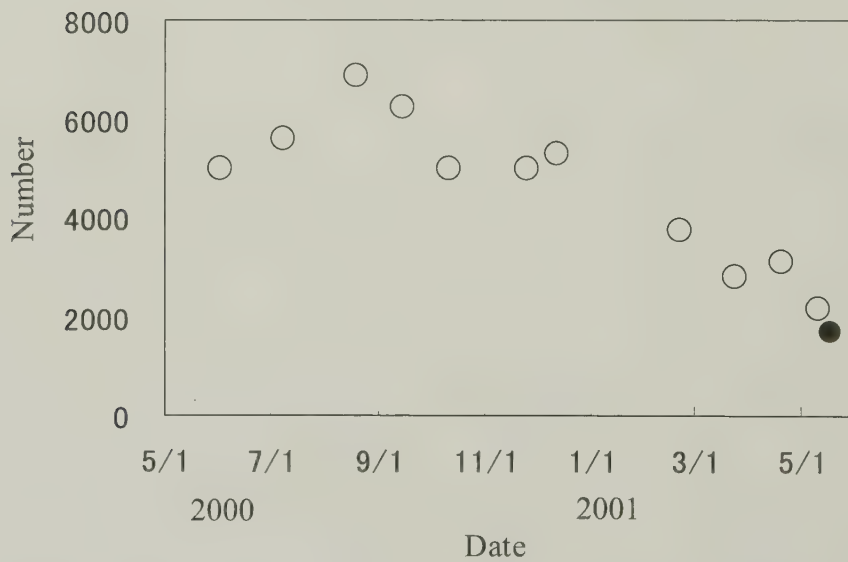


Fig. 10. Number of survived Kuruma prawn (1999 batch) estimated by quadrat method.

○ : estimated number ● : actual harvested number

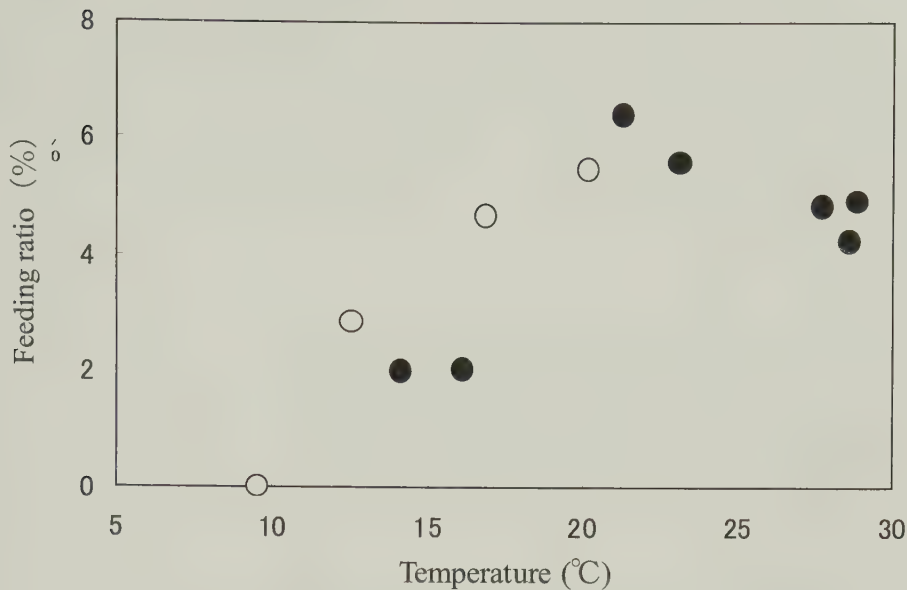


Fig. 11. Relationship between feeding ratio and water temperature in 1 yr and 2 yr old Kuruma prawn.

Feeding ratio (%) = amount of given feed (g)/body weight (g) $\times 100$

● : 1 yr old ○ : 2 yr old

の2～3%, 20℃以上では5～6%が適当な値と考えられた。ただし、養成初期においては、この給餌率では単位面積あたりの給餌量が少なく稚エビに充分に行き渡らないため、20～30%が適量と考えられる。また、冬期の無給餌期間の前には水温15℃以下の時期でも2～3%量を給餌し、越冬前に十分に摂餌させておくことも重要である。毎日の給餌量の決定には、養成池内の生残尾数を常に把握することが重要であるが、コドラート法による推定値が実数に近い値を示したことから (Fig. 3), コドラート法は養成池における有効な計数方法であるといえる。

第3節 養成したクルマエビの成熟と産卵

素掘り池で養成したクルマエビを採卵用の親エビとして利用するためには、成熟個体の出現時期を把握し、成熟個体から高率に採卵する技術が必要である。本節では、複数例のクルマエビの養成試験をもとに、養成エビの成熟状態の時期的変化を明らかにすることを目的とした。また、成熟個体からの採卵方法として、注射器で採取した卵巣卵の成熟状態を顕微鏡下で判別し (生検法)、最終成熟に至った卵巣卵を保有する個体のみを採卵に使用する方法について、最終成熟に至っていない個体では、片側眼柄を結紮する産卵誘発方法 (眼柄処理法) について、それぞれの効果を明らかにする

ことを目的とした。

材料と方法

供試エビ 試験には、94～01年群を用いた (Table 6)。各群の年齢の区分として、養成を開始した12月31日までを0歳、翌年1月1日から12月31日までを1歳、および翌々年1月1日から2歳とした。94年群、95年群および97年群は1歳時まで、96年群と99年群は2歳時まで養成した。94～97年群には配合飼料 (クルマエビ用飼料; ヒガシマル社製クルマエビ飼料) と冷凍生餌 (アジ、イカ、およびイサザアミ) を、99年群は配合飼料 (ヒガシマル社製クルマエビ用飼料および協和発酵社製エビアン協和) のみを給餌した。

成熟度調査 94年群、95年群および97年群は1歳時まで (調査尾数は、それぞれ3,655尾、2,542尾、2,623尾)、96年群と99年群は2歳時 (調査尾数は、それぞれ4,006尾と1,416尾) まで雌エビの成熟状態を調査した。調査頻度は1歳時と2歳時の4～8月は4～8回/月、それ以外の期間は1～2回/月としたが、94～97年群では、カゴ網による捕獲であったため、低水温期の1～3月にはクルマエビが捕獲できず成熟度を調査しなかった。99年群では2歳時の1～3月に潜水による捕獲と調査を行った。

Table 6. Artificially-reared Kuruma prawn used for maturation judgment and experimental spawning

Batch	origin of broodstocks	Pond	Date	At stocking			Feed	Mature specimens of 1 yr old		Mature specimens of 2 yr old	
				Number of specimens (n)	Mean body length (mm)	Mean body weight (g)		Occurrence period (date)	Maximum incidence of occurrence ^{*1} (%)	Occurrence period (date)	Maximum incidence of occurrence ^{*1} (%)
1994	Wild	No. 2	1994.5.7	60,000	25.0	0.18	Commercial diets ^{*3} , raw diets ^{*5}	4.17~7.24	89	N.D.	N.D.
1995	Wild	No. 3	1995.5.12	53,000	27.6	0.17	Commercial diets ^{*3} , raw diets ^{*5}	5.7~7.23	26	N.D.	N.D.
1996	Artificially-reared ^{*2}	No. 2	1996.7.22	39,000	30.6	0.30	Commercial diets ^{*3} , raw diets ^{*5}	4.7~8.25	38	4.6~	50
1997	Artificially-reared ^{*2}	No. 3	1997.8.29	25,000	36.0	0.18	Commercial diets ^{*3} , raw diets ^{*5}	4.27~6.23	18	N.D.	N.D.
1999	Wild	No. 3	1999.7.2	23,000	40.2	0.66	Commercial diets ^{*4}	5.8~7.26	43	3.27~	55

*1 : Maximum incidence of occurrence of mature specimens among all specimens in which maturation was examined.

*2 : Broodstock reared in Momoshima Station

*3 : Diet for Kuruma prawn (Higashimaru Co., Ltd)

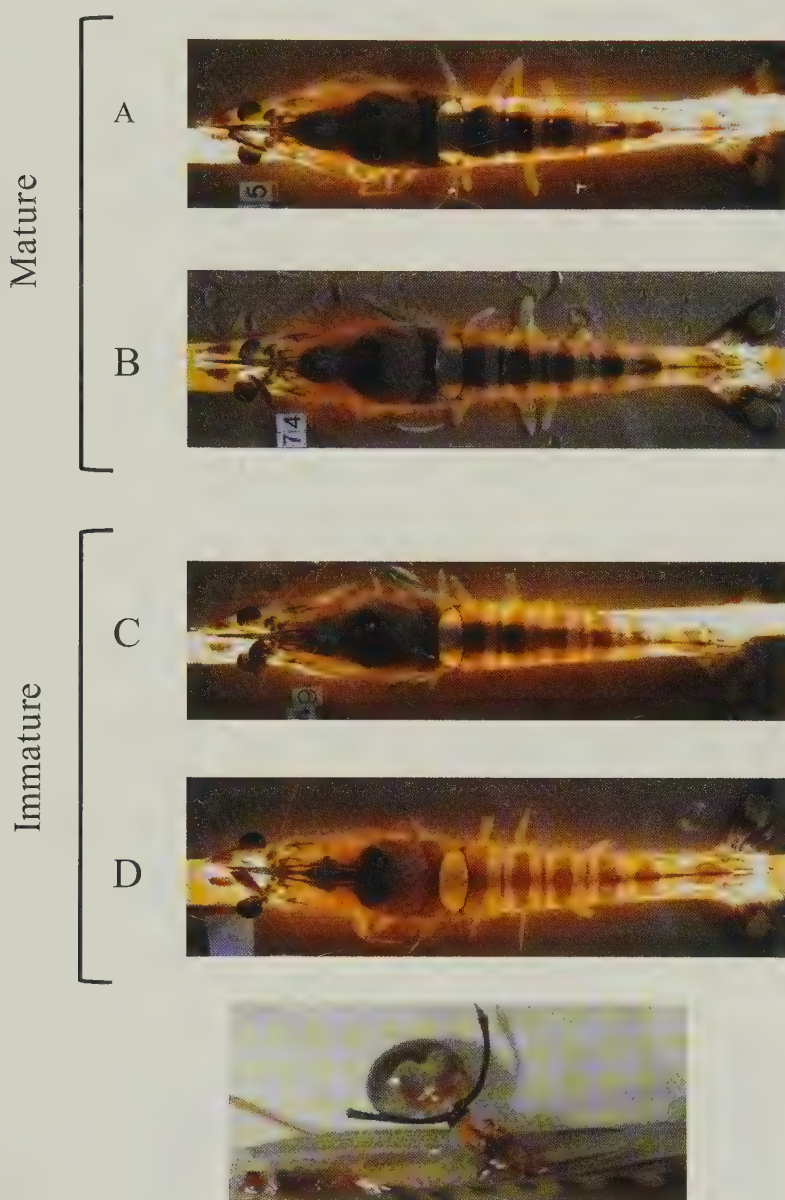
*4 : Diet for Kuruma prawn (kyowahakko Co., Ltd)

*5 : frozen raw diets (horse mackerel, squid, mysids)

成熟度調査では、宮島・松本（1996）の方法に準じ、目視で観察した卵巢の太さと色により、成熟度を A ～ D ランクの 4 段階（以下、目視法）に分けた（Fig. 12）。なお、A および B ランクと判断した個体を成熟個体とした。また、成熟個体については、生検法（宮島・松本、1996）で卵巢卵に表層胞が確認された個体の割合

を調査し、以下の試験に供した。

養成エビの採卵試験 養成した成熟エビからの採卵試験には、A および B ランク個体を用いた。これらの個体は、生検法で卵巢卵に表層胞が確認された個体（成熟段階は前成熟期または成熟期）と確認されない個体



Eyestalk ablation

Fig. 12. Ovary maturation levels of Kuruma prawn.
Eyestalk ablation method.

A: Well developed thick ovary

B: Developed thick ovary with clear profile

C: Undeveloped thin/unclear ovary

D: Undeveloped thin and dimly visible ovary

(Miyajima and Matsumoto1996)

(成熟段階は第3卵黄球期)に分けた。

採卵方法として、表層胞を有する個体には眼柄処理を行わないで産卵させた(表層胞区)。表層胞区として、94年群(26尾)、95年群(15尾)、および96年群(51尾)の1歳エビで試験を行った。卵巢卵に表層胞が確認できない第3卵黄球期にある個体は、片眼柄を手術用縫合糸で結紮(Fig. 12)する個体(眼柄処理区)と無処理の個体(眼柄無処理区)に分け、眼柄処理による産卵誘発方法の効果を比較した。眼柄処理区には、94年群(15尾)、95年群(6尾)、96年群(90尾)、97年群(32尾)および99年群(20尾)の1歳エビ、96年群(5尾)と99年群(29尾)の2歳エビを用いた。眼柄無処理区は、96年群(38尾)の1歳エビを用いた。また、対照区としては、94年群(14尾)の1歳エビを用いて生検法による選別と眼柄処理を施さず産卵させる試験を行った。

産卵の確認の際、完全産卵または一部産卵のいずれも産卵個体とし、試験に使用した雌エビの個体数に対する産卵個体数の割合を産卵個体率とした。また、総産卵数を産卵個体数で除した値を1個体当たりの産卵数とした。

天然エビの採卵試験 養成エビと比較するため、1995年3月24日(天然1区)と7月14日(天然2区)に愛知県播磨郡一色町で漁獲された天然エビを用いて採卵試験を行った。天然エビは、採集地より300L水槽(20尾、天然1区)または15L発泡スチロール箱(10尾、天然2区)で海産無脊椎動物研究センターへ輸送後、生検法により表層胞の有無を確認し、第3卵黄球期にある個体には片眼柄処理を行い、天然1区では表層胞区、眼柄処理区および無処理区の計3区に、天然2区では表層胞区と眼柄処理区の計2区に分けて採卵試験を行った。

採卵方法 採卵水槽には500Lのポリエチレン水槽を使用し、1水槽当たり養成エビは5～6尾、天然エビは1～2尾を収容した。各試験区とも毎日16時にアサリの剥き身を飽食量給餌した。水温は1歳エビと天然エビでは25℃、2歳エビでは20℃になるように1kWヒーターで設定した。採卵水槽へ収容後7日間は毎日産卵の有無を確認し、産卵個体率と産卵量を求めた。

結 果

養成エビの成熟 各養成年群の成熟個体出現率の推移をFig. 13に示す。1歳時の成熟個体は、96年群以外で

は4月下旬～5月上旬から出現した。96年群では1、2歳時とも成熟個体が4月上旬から出現し、1歳時での出現は他の群より早かった。各養成年群における成熟個体の最大出現率は18～89%と顕著な差が認められた。また、94年群では50%以上の高い出現率が約1カ月間続いたが、97年群では期間を通じて20%未満であり、成熟個体の出現状況に群による差が認められた。年齢別の成熟個体出現率では、96年群は1歳時と2歳時で顕著な差は認められなかったが、99年群は最高値が1歳時の40%に対し、2歳時で60%と高くなった。

さらに、99年群の1歳時3月から2歳時6月までについて、成熟状況と水温の変化をFig. 14に示す。卵巢がわずかに膨らむ段階であるCランクは、1歳時では4月24日～10月24日の間に出現し、2歳時では3月27日から確認された。成熟個体であるAおよびBランクは、1歳時では5月8日～7月26日に出現し、9月26日にも一時的に確認された。2歳時では、1歳時より1カ月早い3月27日から観察された。Cランク出現時の水温は、1歳時では15℃、2歳時では10℃であった。また、Bランク出現時の水温は、1歳時では20℃、2歳時では15℃と年齢により違いが見られた。

成熟個体のうち、卵巢卵に表層胞が確認された個体は、1歳時では5月25日～6月26日、2歳時では4月22日～6月6日の間に確認された(Fig. 15)。表層胞が観察された個体が成熟個体中に占める割合は、1歳時では9.4%(5.5～13.6%)、2歳時では13.0%(8.6～18.9%)であった。

養成エビの採卵結果 養成エビの成熟個体を用いた採卵試験の結果をTable 7に示す。各試験区における産卵個体率は、対照区の7.1%、眼柄無処理区の2.6%に対し、眼柄処理区で40～100%、表層胞区で73.3～76.5%と顕著に高くなった。眼柄処理区を年齢によって比較してみると、96年群と99年群の1歳時と2歳時とも産卵個体率は70%以上を示し、年齢による差は認められなかった。

1尾当たりの平均産卵数は、対照区が26.1万粒、眼柄無処理区が23.6万粒、眼柄処理区が4.7～19.3万粒、および表層胞区が9.0～29.6万粒であった。眼柄処理区では、1歳時の産卵数は96年群の10.6万粒、99年群の9.4万粒に対し、2歳時の産卵数は、それぞれ17.0万粒、19.1万粒と1歳の約2倍であった。

天然エビからの採卵 天然エビからの採卵結果をTable 7に示す。天然1区、2区とも眼柄処理区では産卵しなかったが、眼柄無処理区の産卵個体率は16.7%であった。表層胞区の産卵個体率は、天然1区

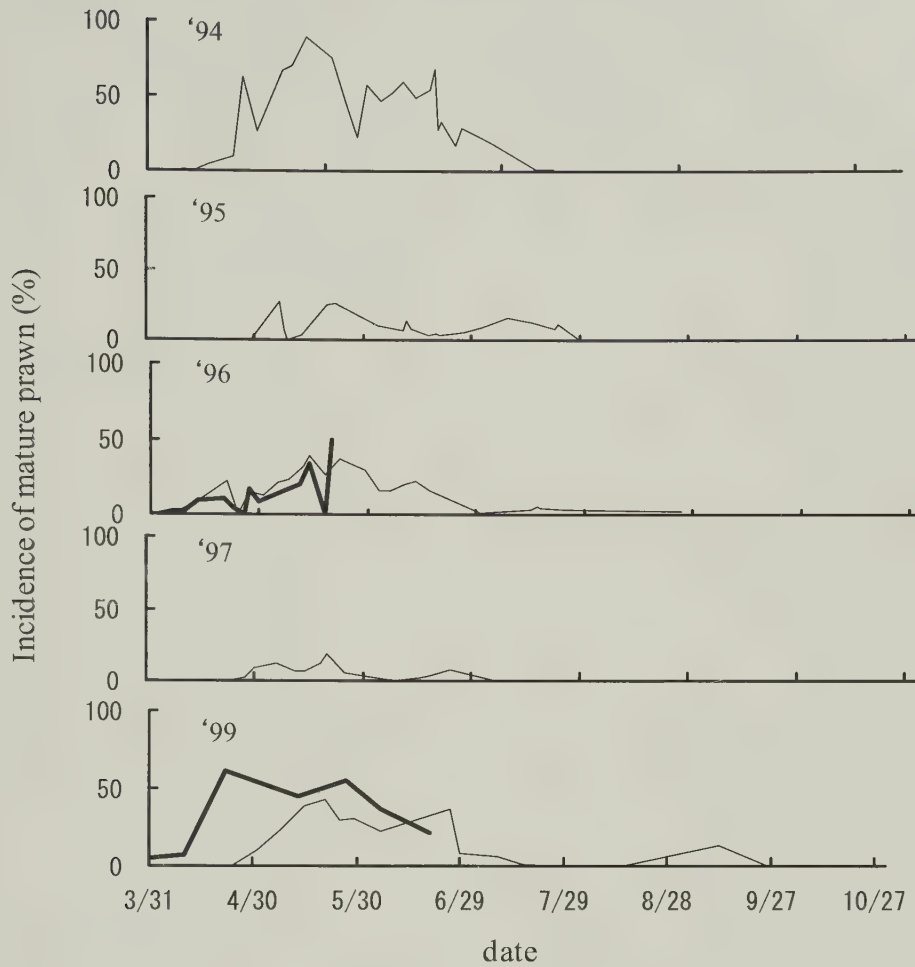
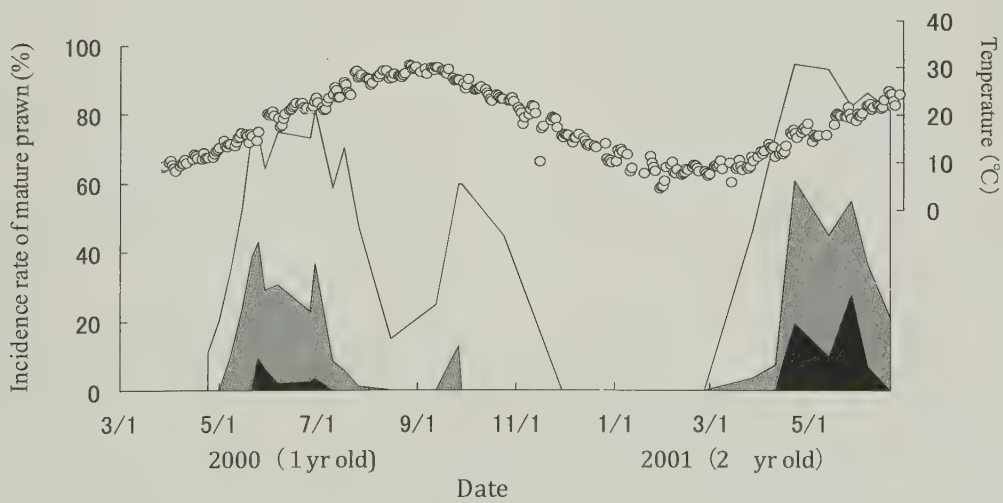


Fig. 13. Monthly fluctuations of occurrence of matured Kuruma prawn reared in earthen ponds from March to October of 1994-1999

— : 1yr old — : 2yr old



■ : maturation rank A, ■ : rank B, □ : rank C, ○ : water temperature

Fig. 14. Occurrence of mature Kuruma prawn (1999 batch) of different maturation ranks estimated by visual judgment.

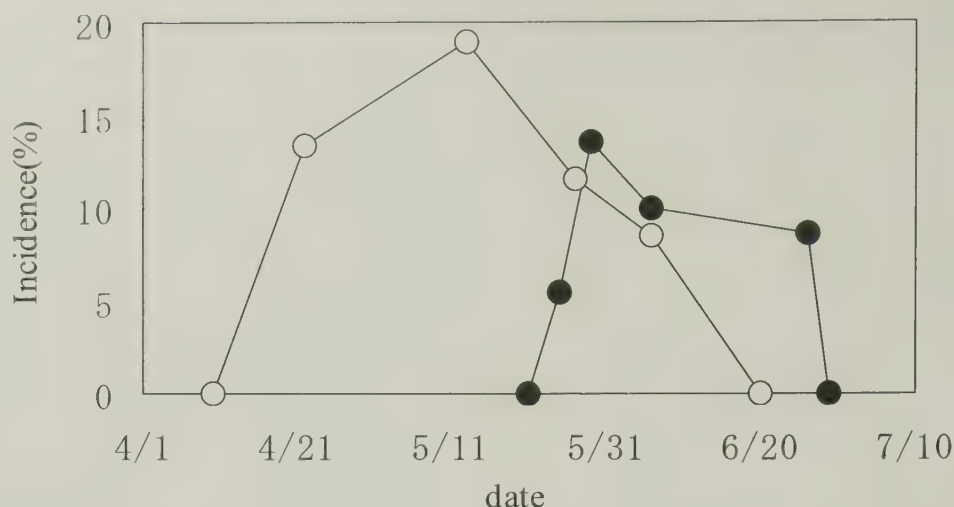


Fig. 15. Incidence of matured Kuruma prawn (1999 batch) having ovarian oocytes with cortical alveoli.
 ● : 1 yr old, ○ : 2 yr old

が75%であったが、天然2区では25%と低かった。1尾当たりの産卵量は、天然1区が18.5万粒、天然2区が16.3万粒であった。

考 察

素掘り池で養成したクルマエビの場合、成熟個体の出現時期は1歳時では5～8月、2歳時では4月以降であり、種苗生産の開始時期^{*4}と一致する。近年はPRDVの感染率が低い天然エビの確保が可能な4～5月からの種苗生産に移行しつつあるが、養成個体の2歳時では、例数は少ないが4月に成熟個体が出現したことから、養成による早期の親エビ供給の可能性が示された。また、1歳時の成熟個体の出現時期と出現率は養成年群により大きく変動するが、96年群は他の年群より早く4月に成熟個体が出現し、1歳でも早期に親エビを供給できる可能性が示された。成熟個体の出現時期の違いについてみると、天然個体では大型ほど成熟が早いことから(水藤 1995)、養成個体でも1歳時より大型である2歳時で成熟個体の出現が早かったと考えられる。しかし、96年群の1歳時の成熟個体の出現時期は他の群より早かったものの、体サイズは同時期の他の群と同程度であり、早期の成熟には体サイズ以外の要因も関与しているものと考えられる。クルマエビ類の成熟には、餌料としてゴカイ類が有効であり(Luis *et al.* 1993; Naessens *et al.* 1997)、養成池では自然発生するゴカイなどのベントスがクルマエビ

の成熟に関与していることも考えられる。百島事業場の養成池では、成熟個体が出現する直前の2～3月にゴカイ類の大量発生が確認され^{*5}、これらの発生量の年変動がクルマエビの成熟に影響し、年群による差が生じた可能性も考えられる。

素掘り池で養成した成熟個体を効率的に産卵させる方法として、生検法により卵巢卵に表層胞が確認された前成熟期または成熟期の個体のみを使用すると、無処理で73～77%の産卵個体率が得られた。この値は水藤ら(1996)が表層胞を持つ天然エビを用いて4～7月に採卵を行った結果(66.7～100%)と同程度であった。しかし、素掘り池で成熟した個体では、卵巢卵に表層胞を有する割合が低く、これらの個体のみで、まとまった尾数の親エビを確保することは困難である。

素掘り池で成熟した個体の大部分は卵巢卵が第3卵黄球期であり、量的確保が可能なこれらの個体からの採卵技術の開発が必要不可欠である。そこで、これらの個体に眼柄処理を施すと平均して70%(40～100%)が産卵に至り、この方法は養成年群や年齢に関係なく有効な採卵方法であると判断された。クルマエビの片眼柄処理の方法では、切除法に効果が認められているが(宮島ら 1996; 伏屋ら 2006)、切除した傷口から病原体が侵入する可能性があるため、疾病防除の面からも結紮法が望ましいと考える。

眼柄処理は養殖クルマエビでは未成熟個体でも成熟し、15.8～40%の個体が産卵に至り、産卵誘発の効果が認められている(玉城ら 1998)。しかし、眼柄処理

*4 平成12～23年度西日本種苗生産機関連絡協議会甲殻類分科会資料。

*5 齊藤 肇(2001)粗放的クルマエビ養殖育池のマクロベントス群集。I. 水質とベントス群集の変動。第15回ベントス学会講演要旨集, p.1426。

Table 7. Egg collection method and spawning of Kuruma prawn reared in earthen ponds and those collected from nature

Batch	Experimental periods (date)	Body length (mm)	Broodstock having oocytes with cortical alveoli			Broodstock with eyestalk ablation			Broodstock without treatment			Naturally-spawned broodstock		
			Number of specimens	Incidence of spawned specimens (%)	Number of spawned eggs per specimen ($\times 10^3$)	Number of specimens	Incidence of spawned specimens (%)	Number of spawned eggs per specimen ($\times 10^3$)	Number of specimens	Incidence of spawned specimens (%)	Number of spawned eggs per specimen ($\times 10^3$)	Number of specimens	Incidence of spawned specimens (%)	Number of spawned eggs per specimen ($\times 10^3$)
1994	4.28~7. 8	157~170	26	75.0	296	15	40.0	193	-	-	-	14	7.1	261
1995	5. 8~7.23	160~176	15	73.3	174	6	66.7	96	-	-	-	-	-	-
1996	4.15~7.18	153~175	51	76.5	90.0	90	71.1	106	38	2.6	236	-	-	-
1997	5. 8~5.23	174~185	-	-	-	32	70.0	47	-	-	-	-	-	-
1999	5.31~6.30	152~171	-	-	-	20	70.0	94.0	-	-	-	-	-	-
1996 ^{*1}	4.28~5.15	188~195	-	-	-	5	100.0	170.0	-	-	-	-	-	-
1999 ^{*1}	5.11~5.18	183~186	-	-	-	29	69.0	191.0	-	-	-	-	-	-
Wild 1 ^{*2}	3.24	167~206	4	75.0	185	6	0.0	0.0	5	16.7	185	-	-	-
Wild 2 ^{*2}	7.14	140~180	8	25.0	163	2	0.0	0.0	-	-	-	-	-	-

*1 : 2yr old

*2 : Wild broodstock obtained from Isshiki City, Aichi Prefecture in 1997

- : No date

は天然エビでは効果が認められず、養成した個体のみに有効な方法であると推察される。この理由として、養成個体はカゴ網で捕獲後速やかに試験に供するため活力が良好で、眼柄の処理のストレスに対する抵抗性が強いことが考えられる。一方、天然個体では、漁獲や長時間の輸送によるストレスが産卵を抑制し（矢野1988）、6～7月の高水温期には漁獲から採卵までの水温変化も成熟に悪影響を及ぼし（水藤ら1996）、産卵を阻害する要因になっている可能性がある。

第4節 ウイルスフリー親エビの養成

クルマエビの種苗生産では、PRDVの感染経路の一つとして、親エビから卵を介した垂直感染が主要な感染経路と考えられており（佐藤ら1999）、種苗生産過程でのPAVの防除にはPRDVを保有していない親エビの確保が重要とされている（虫明ら1998）。本節では、半開放的な素掘り池を利用して、ウイルスに感染していないクルマエビ種苗を親エビに養成する試験を行い、PRDVフリーの親エビ（PCR法によりPRDV遺伝子が検出されない親エビ）の確保と、その親エビからPRDVフリーの稚エビ生産の可能性を検証することを目的とした。

材料と方法

供試エビ 本試験には1999年群を使用した。同群の種苗生産では、1999年4月2日に大分県鶴見町に水揚げされた親エビを用いた。親エビを（社）日本栽培漁業協会上浦事業場（現水産総合研究センター増養殖研究所上浦庁舎）に輸送後、産卵水槽（500L）に10尾収容して産卵させた。飼育に供するPRDVフリーの卵の確保は、Mushiake *et al.* (1999)の方法に準じた。すなわち、親エビの産卵後、産卵個体の受精嚢からポリメラーゼ連鎖反応（Polymerase Chain Reaction: PCR）法によりPRDVの検出を試み、PCR陰性の親エビから得た受精卵のみをヨード剤（有効ヨウ素5 mg/Lで5分間浸漬）で消毒し、飼育に供した。

種苗生産試験には屋内150 kL水槽を用い、77日間の飼育を行った。飼育水にはオゾン殺菌処理海水を使用した。種苗生産期間中は、定期的にPCR法により稚エビのウイルス検査を行った。稚エビからPRDV遺伝子は検出されなかったため、1999年7月2日に稚エビ（P74）2.3万尾を百島事業場（現、海産無脊椎動物研究センター）へ輸送し、素掘り池（2号池）へ収容した。輸送には0.5および1 kL水槽を各1基ずつ使用し、輸送中は酸素とブローアによる通気を行った。素掘り池

収容時の稚エビの大きさは、平均体長40.2 mm、平均体重0.66 gであった。

給餌 餌料には市販の配合飼料（10月5日までヒガシマル製、10月6日以降は協和発酵製）を使用し、1日に1回、16時以降に給餌した。養成期間中は、適宜、潜水調査を行い、死亡個体やごみ、海草を除去するとともに、残餌の状況を観察し給餌量を調整した。なお、低水温期の1月～3月は摂餌しないため給餌しなかった。

水質調査 素掘り池の水質調査項目として、毎日9～10時に注水口の水温、塩分、溶存酸素量、pHおよび濁度を測定した。測定には東亜電波社製のDOメーター、pHメーター、および塩分計を使用した。

成長と生残 養成期間中、月に2～3回カゴ網によりクルマエビを捕獲し、体長、頭胸甲長および体重を測定した。なお、低水温によりエビの捕獲ができない12月末から翌年3月中旬までは測定を実施しなかった。

生残尾数の推定は、2000年6月1日、7月7日および8月18日にコドラート法により行った。調査方法は、素掘り池内に24カ所の定点を設け、定点毎に1 m角の枠内の尾数を計数し、1 m²中の平均尾数を求め、それに素掘り池の面積7,000 m²を乗じて素掘り池内の生残尾数を推定した。また、雌エビでは交尾栓の有無と、宮島・松本¹²⁾が従来の目視による判断を整理し、成熟状態をA～Dの4段階（AおよびBが成熟個体）に分けた評価で行った。

PCR法によるPRDVの検出 1999年7月から2000年6月にかけて、クルマエビと池内に生息するカニ類、スナモグリおよび多毛類について、PCR法によるPRDVの検出を行った。なお、検査は（社）日本栽培漁業協会上浦事業場（現、独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所上浦庁舎）で行った。

養成クルマエビのウイルス検査は1999年9月、11月、2000年2月、3月、4月および6月の計6回実施し、1回あたり6～56尾を検査した。検査部位は雌では受精嚢、卵巣卵および胃上皮の3部位とし、また、雄では貯精嚢と胃上皮の2部位とした。いずれのサンプルも個体別にPCR法による検査を行った。また、カニ類、スナモグリおよび多毛類は1999年6月、9月および2000年4月の計3回、カニ類とスナモグリは胃上皮、多毛類は頭部について検査した。

水産庁のマニュアル⁴⁾に従って、検体から鋳型DNAの抽出を行い、木村ら（1996）の方法に準じ、nested PCRによりPRDVの標的遺伝子（569塩基対）を増幅させ、アガロース電気泳動により増幅産物の有無を確認してPRDVの検出を行った。

結 果

環境の変化 養成期間中の水温、溶存酸素量、pH および塩分の変化を Fig. 16 に示す。養成期間中の水温は 8 ～ 9 月に 30℃ まで上昇し、1 ～ 2 月は 5℃ まで低下した。溶存酸素量は 5 ～ 15 mg/L、pH は 7.0 ～ 9.0 の範囲にあり、夏期に低下し冬期に上昇する傾向が見られた。塩分は 30 ～ 35psu の範囲で、季節による大きな変動は認められなかった。

成長と生残 種苗生産した稚エビの輸送中に目立った死亡は認められず、素掘り池収容時の活力は良好であった。養成開始から翌年 9 月までの成長を Fig. 17 に示す。体長、頭胸甲長および体重の増加はシグモイド状の曲線を示し、低水温期である 1 月から 3 月の間は成長が停滞した。

養成 1 年後のコドラート法による推定生残尾数は 4,600 ～ 6,400 尾（生残率 17.6 ～ 24.6%）と推定された。なお、養成期間中に PAV による大量死亡は認められなかった。

成熟と産卵 雌エビの成熟状況を Fig. 18 に示す。交尾栓を保有する個体の出現率は 11 月から増加し、12 月以降は 90% 以上を示した。成熟個体は、養成開始翌年の 5 月 8 日から確認され、その時の平均体長は 152.8 ± 7.3 mm、平均体重は 44.6 ± 5.8 g であった。また、5 月 26 日に出現率が 43.1% と最も高くなった。

種苗生産試験を目的として、2000 年 6 月 8 日に上浦事業場へ 50 尾の成熟個体を輸送し、産卵させた。輸送した全ての親クルマエビから PCR 法により PRDV 遺

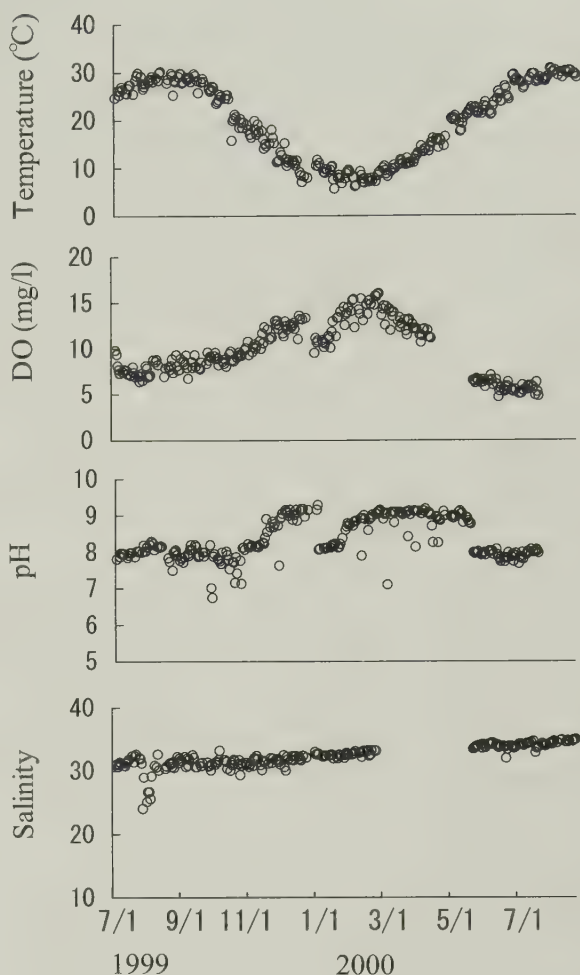


Fig. 16. Environmental changes in experimental earthen pond for Kuruma shrimp rearing (or stocking).

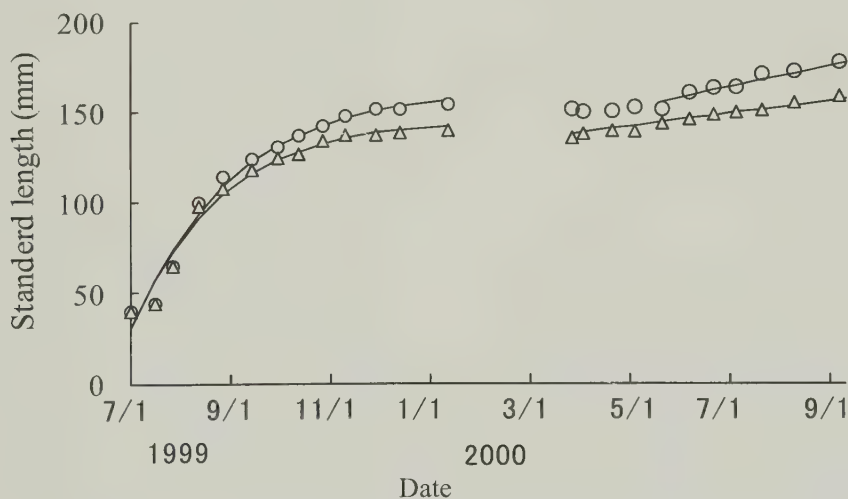


Fig. 17. Growth of Kuruma prawn in experimental earthen pond.

○ : female △ : male

*4 水産庁養殖研究所病理部・熊本県水産研究センター：PCR 法による PRDV (RV-PJ) の検出方法（平成 8 年度魚病技術者研修魚病専修コース研修用資料），日本水産資源保護協会，東京，pp.1-8（1996）。

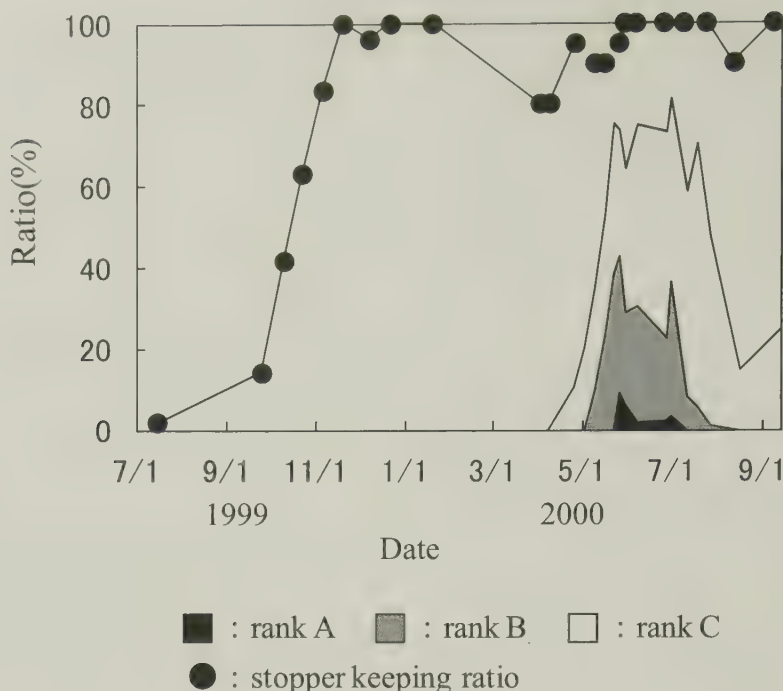


Fig. 18. Changes in maturation level and stopper keeping ratio of female Kuruma prawn in experimental earthen pond.

伝子は検出されなかった。そのうち4尾の親クルマエビから得られた73万粒の受精卵をふ化させ、52万尾のふ化幼生が得られた。また、この幼生を用いて生産した稚エビから、PRDV 遺伝子は検出されなかった。
ウイルス検査結果 養成クルマエビについて行った6回の検査結果を Table 8 に示す。いずれの時期においても、また、雌雄いずれの個体からも PRDV は検出されなかった。また、素堀り池内に生息するカニ類、スナモグリおよび多毛類について3回の検査を行ったが、いずれのサンプルからも PRDV は検出されなかった (Table 9)。

考 察

PRDV の感染経路には、水平感染と垂直感染の両方が存在すると考えられている (中野 1994; 佐藤 1999)。そのため、人工稚エビを用いた親エビの養成過程において、PAV の防除にはこの二つの感染経路を遮断するような対策を講ずることが重要である。

垂直感染の防除には、種苗生産過程でウイルスを保有していない親エビから得られた卵の使用、およびヨード剤を用いた卵の消毒が有効であることが報告されている (宮島 1996; 虫明 1998; 佐藤 1999)。今回素堀り池試験に用いた稚エビの生産過程においても、これら2つの予防対策を講じたことで PRDV の垂直感染

を防除できたと考えられる。

一方、水平感染の場合、種苗生産や中間育成場での飼育過程における様々な要因がストレスとして宿主に負荷をかけ、その結果として PRDV に対する感受性を増大させ、PRDV の宿主生体内での増殖を誘導する可能性が指摘されている (虫明 1998)。素堀り池でのストレスとしては、高密度飼育、餌不足および環境の悪化が挙げられる。しかし、本試験における稚エビの収容密度は3.7尾 / m^2 であり、養殖での一般的な収容密度20尾 / m^2 (脇 1993) に比べてかなり低く、飼育密度の影響は少ないと考えられる。また、養成期間中にクルマエビの体重や肥満度の低下が認められなかったことから、餌不足であったとは考えにくい。このように、今回、素堀り池を用いた低密度養成により、クルマエビへのストレスを軽減させることができたことが親エビ養成に成功した要因の一つと考えられた。

素堀り池内に PRDV が侵入し水平感染を引き起こす可能性の一つとして、外海に棲息する PRDV キャリアの素堀り池への侵入に伴い、諸要因によりストレスを受けたクルマエビが容易に PRDV に感染するケースが想定される。実際に PRDV に感染したニホンスナモグリと同居させることにより、クルマエビ種苗に PRDV の水平感染が成立することが実験的に確かめられている*⁵。本試験で1年間の養成を行った結果、養成エビに PRDV の感染が認められなかったことから、

Table 8. Results of PRDV detection in Kuruma prawn reared in eaethen pond

Year	Date	Number	Results of detection in female (number of positive specimens/negative specimens)					Results of detection in male (number of positive specimens/negative specimens)				
			Average body length (mm)	Spermatheca	Ovarian	Stomach	5th Ambulatory leg	Number	Average body length (mm)	Spermary	Stomach	5th Ambulatory leg
1999	11.30*	10	151	0/10				5	137	0/5		
2000	3.31	10	151	0/10				10	135	0/10		
	4.7	28	150	0/28				23	138	0/23		
	5.9	10	152	0/10	0/10	0/10	0/10	10	139	0/10	0/10	0/10
	6.8	56	160		0/56							
	8.30	10	172	0/10	0/10	0/10		19	155	0/19	0/19	0/19

* : unsexed specimens blank : not investigated

Table 9. Results of PRDV detection in other organisms.

Organisms	Test results (number of positivity / specimen)		
	1999.6	1999.9	2000.4
Ghost nipper	0 / 32	0 / 24	0 / 14
Polychaeta	0 / 15	0 / 10	0 / 6
Crabs	0 / 11	0 / 41	0 / 12

素掘り池への侵入生物による PRDV の持ち込みはなかったものと考えられる。現在、天然クルマエビ以外にも *Ephydriidae* 属の昆虫、コペポダ (*Schmackeria dubia*)、エビ類 (*Exopalaemon orientis*)、カニ類 (*Helice tridens*) での PRDV の感染事例 (Lo et al. 1996b) や、感染は成立するものの死亡に至らずキャリアーとして生存し続ける事例 (Rajendran et al. 1999) が報告されている。PCR 法にはウイルスの量的な検出限界があり、また、今回の試験でも検査サンプル数も十分であるとは言いが、調査した素掘り池内に生息するスナモグリ、カニ類および多毛類のいずれからも PRDV は検出されなかった事実から、これらの環境生物における PRDV の感染濃度は極めて低いと考えられた。また、仮にそれらの生物にごく微量の PRDV が感染していたとしても、養成クルマエビが適正な飼育条件下に管理され宿主側の抵抗力が正常に機能していたために水平感染を受けることがなかったとも考えられる。すなわち、潜水調査時に死亡個体やごみなどの除去を行うとともに、餌料を配合飼料のみとしたことで水質の悪化を防止できたことも水平感染の防除に効果があったと推察された。

本試験で養成したクルマエビから PRDV は検出されず、PAV も発生しなかったことから、水平感染はなかったものと判断された。しかし、使用した素掘り池の水温は、夏期が29℃以上に上昇し、冬期には5℃に下降することから、この水温変動の較差が最も大きなストレスナーになり得る可能性は残されている。また、クルマエビの養殖場では、29℃以上の高水温は種苗の成長に悪影響を及ぼすことが報告されている。今後この素掘り池を利用した親エビ養成を行う際の課題として検討する必要がある。

第3章 採卵に適した親クルマエビの評価技術

第1節 卵影比によるクルマエビの成熟度評価

クルマエビの卵巣は腹節の背面から容易に確認できるため、種苗生産に使用する親エビの選別は、卵巣の大きさを目視で判定する方法で行われている。しかし、この方法では、卵巣の大きさが数値化されていないため、観察者によって判定が異なることが想定される。そこで本研究では、外観から卵巣の大きさを計測し、数値化することにより、種苗生産の現場で利用可能な汎用的かつ客観的な成熟度評価指標を考案することを目的とした。

材料と方法

本試験には2000年群の2歳エビ（平均体長176.0±9.7 mm, 82個体）を使用した。供試個体の第1腹節幅と、腹節背面から確認される卵巣の幅をノギスで測定し、両者の比（卵巣幅／腹節幅×100）を求め、この値を卵影比（%）とした（Fig. 19）。卵影比測定後、解剖により卵巣を取り出し、生殖腺指数（卵巣重量／体重×100）を求め、卵影比との関係を調査した。また、卵影比を測定したクルマエビに産卵誘発のための眼柄処理を施し、個体別に採卵水槽（100 L ポリエチレン製円形水槽、水温25℃）に収容した。水槽収容後、毎日、午前中に産卵の有無を確認し、産卵が確認された水槽は、プランクトンネット（目合い63 μm）を使用して卵を全て回収し、卵数を計数した。

結 果

クルマエビの卵影比と生殖腺指数との関係を Fig.

*5 福田 穰 (1999) クルマエビ養殖池に生息するニホンスナモグリからの PRDV の検出。平成11年度日本魚病学会春季大会講演要旨集, 38.

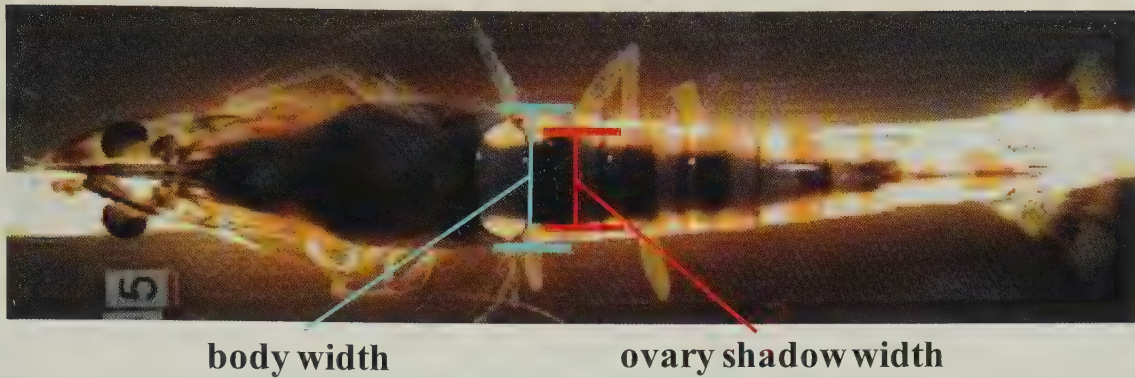


Fig. 19. Measuring method of ovary shadow ratio (%).

Ovary shadow ratio (%) = ovary shadow width / body width × 100

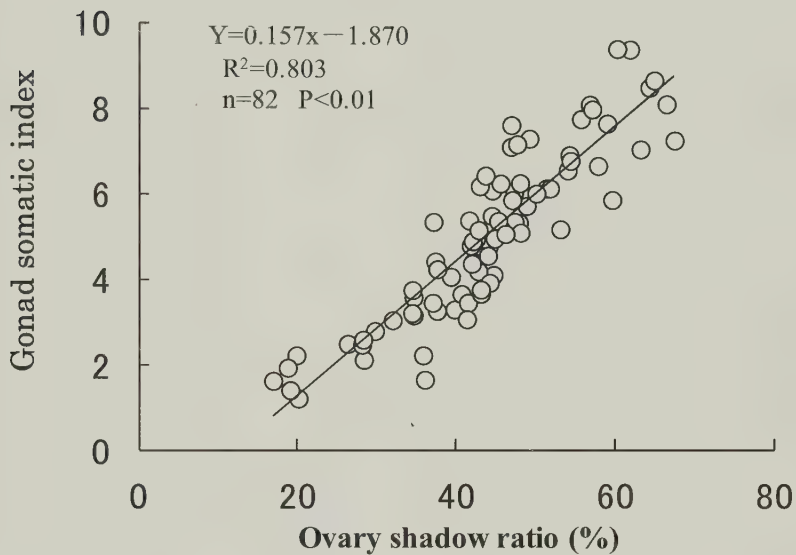


Fig. 20. Relationship between ovary shadow ratio and gonad index of Kuruma prawn.

20に示す。試験に使用したクルマエビの卵影比は16.9～67.5%，生殖腺指数は1.2～9.4であり，両者の間に正の相関 ($R^2=0.8031$) が認められた。クルマエビの卵影比と産卵個体率との関係を Fig. 21に示す。卵影比が高い個体ほど産卵個体率が高くなる傾向が認められ，卵影比30%未満の個体の産卵率は0%であり，卵影比30～35%では28.5%，35～40%では61.1%，40%以上では80%以上の値を示した。

考 察

一般に，種苗生産に使用する親エビの成熟度評価は，卵巣の大きさを目測で判断する方法で行われているが（宮島・松本1996），この方法では，観察者により評価

が異なる可能性がある。また，生殖腺指数は成熟度を数値化できるが，クルマエビを生かした状態で測定することができない。これに対し，卵影比は生殖腺指数と高い相関を示したことから，生殖腺指数の代替となる成熟度評価指標であることが判明した。また，成熟度評価指標として卵影比の優れている点として，クルマエビの成熟度を生かしたまま簡易に数値化できることが挙げられ，個体ごとの成熟度の変化を経時的に調査するための指標としても有効である（崎山・清水2005；崎山ら2009）。

クルマエビの採卵方法では，生検法により卵巣卵（卵母細胞）を採取し，産卵直前の卵に形成される表層胞を持つ個体のみを採卵に使用すると高率に産卵することが知られている（宮島・松本1996；水藤ら1996）。し

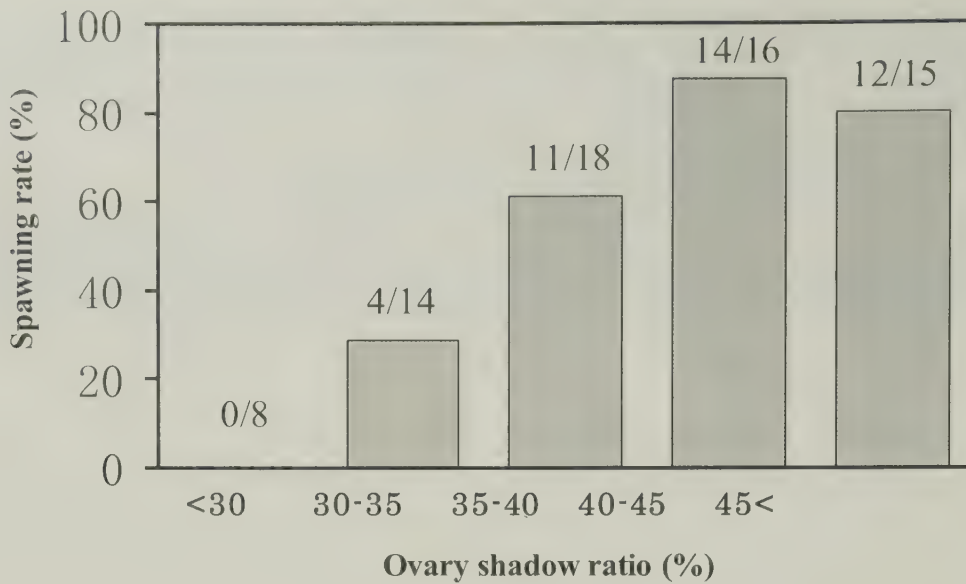


Fig. 21. Relationship between ovary shadow ratio and spawning rate of Kuruma prawn by eyestalk ablation. Numbers indicate spawned individuals among experimental prawns.

かし、目視で成熟状態にあると判断された個体に占める表層胞形成個体の割合は低い(崎山ら2003)。そのため、成熟個体の大部分を占める表層胞を形成していない個体を産卵させることが必要であり、その方法として、眼柄処理法に効果が認められている(Yano and Wyban 1993; 玉城ら1998)。眼柄処理による産卵誘発では、産卵する確率の高い親エビを選ぶための基準が必要である。そこで、卵影比の異なるクルマエビを眼柄処理法により個体別に産卵させたところ、卵影比が30%以下の個体は産卵しなかったが、40%以上では約80%の個体が産卵した。このことから、産卵誘発に使用する親エビを選別する基準となる卵影比は40%であると判断された。

第2節 血液成分による親エビの適正評価

(社)日本栽培漁業協会百島事業場(現水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター)素掘池を用いてクルマエビを養成すると、天然エビとほぼ同時期に成熟個体が出現することが明らかにされた。使用した素掘り池の水質や底質、水温などの環境、生息する生物等は天然海域に類似していることから、このような環境下で養成したクルマエビの成熟に伴う生理的な変化は、天然のクルマエビと同様であると推察する。そこで、本節では、素掘り池で養成したクルマエビの成熟に伴う血液の生化学的性状の変化を明らかにし、成熟度の評価指標として有効な血

液成分を把握することを目的とした(試験1)。

第2章第3節では、素掘り池で養成した成熟エビの大部分は卵黄球期の卵を有し、眼柄結紮により容易に産卵することが明らかになった。また、クルマエビ類では、ゴカイ類の給餌に成熟促進効果が認められている。そこで、眼柄処理およびゴカイ給餌による血液の生化学的性状の変化を調査し、成熟促進効果を生理学的に明らかにすることを目的とした(試験2)。

材料と方法

試験1：本試験では、2002年群のクルマエビを調査対象とし、2003年5月(1歳エビ)～2004年7月(2歳エビ)の期間に親エビの卵影比と血液の生化学的性状の変化を調査した。卵影比の調査は1カ月に1～4回、血液の検査は1カ月に1回の頻度で実施した。卵影比は本章第1節の方法で測定した。血液検査については、個体ごとに約0.5 mLの血液を注射器で採取し、生化学自動分析装置(富士フイルム、フジドライケム2500)を使用して、血液の生化学的性状(総タンパク質濃度、総コレステロール濃度、中性脂質濃度、グルコース濃度、アルカリ性フォスファターゼ(ALP)活性、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)活性、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)活性)を検査した。

試験2：試験には2004年群の1歳エビ(平均体長157.0

±7.0 mm)を使用した。試験水槽には0.5 kL ポリエチレン製水槽(水温23℃)を用い、眼柄処理区(片側眼柄の結紮)2区と無処理区1区を設け、各水槽に眼柄標識で個体識別したクルマエビを6個体ずつ収容した。飼育期間中はゴカイ(イシイソゴカイ)を毎日15時以降に、1水槽当たり60～80 g 給餌した。水槽収容後、毎日、個体別に卵影比を計測するとともに、約0.5 mLを採血し、生化学自動分析装置を用いて、血中の中性脂質濃度を測定した。

結 果

試験1：天然に類似した素堀池の環境下において、クルマエビの1歳～2歳時までの成熟状況(卵影比)と血液成分の生化学的性状の変化をFig. 22に示す。生殖腺指数と相関のある卵影比は、1歳時では4～7月と9～10月に、2歳時では3～5月に増加が確認された。ここで測定した血液成分の中では、中性脂質濃度の変化が卵影比の変動と最も類似した。総コレステロール濃度およびALP活性は中性脂質ほどではないが、卵影比の変化と連動する傾向が認められた。

試験2：眼柄処理を行わなかった無処理区と眼柄処理区の卵影比と血液中の中性脂質濃度の経日変化をFig. 23に示す。眼柄処理を行わなかったクルマエビ(無処理区)の卵影比は徐々に低下する傾向が認められ、産卵は確認されなかった。一方、眼柄処理区では9尾中4尾が産卵し、産卵に至らなかった個体の卵影比は無処理区と同様に低下し、産卵に至った個体では、産卵日まではほとんど低下することなく、両者に違いが認められた。無処理区の血液中の中性脂質濃度は20～40 mg/dlの範囲であり、飼育日数の経過に伴う大きな変化は認められなかった。一方、眼柄処理区の血液中の中性脂質濃度は産卵の有無に関わらず上昇する傾向が認められた。しかし、産卵個体と未産卵個体では中性脂質濃度の上昇傾向が異なり、未産卵個体では最大120 mg/dlまで上昇し、産卵個体では80 mg/dlを超えることはなかった。

考 察

本試験において、クルマエビの成熟期に血液の中性脂質濃度、総コレステロール濃度およびALP活性が高くなることが明らかとなった。同様の現象が魚類でも確認され、ブリでは、産卵期中性脂質、総タンパク質および総コレステロール濃度が高まり、中性脂質濃度の高い個体ほど採卵数が多いことから、親魚の健全性評価指標として有効であると考えられている(虫

明ら1998; 崎山ら2003)。クルマエビでは、今回測定した血液成分の中で、中性脂質濃度は卵影比の時期的変化と連動したことから、親エビの健全性評価指標として利用できる可能性が示された。

この結果を受けて、陸上水槽での催熟試験を実施したところ、成熟したクルマエビに眼柄処理を行うと成熟が促進されるとともに、血液中の中性脂質濃度が高まることが明らかにされた。眼柄処理によるクルマエビの血液中の中性脂質濃度の上昇は、摂餌量の増加が原因の一つであると考えられる。また、眼柄処理により産卵した個体と、産卵しなかった個体の中性脂質濃度の変化を比較すると、産卵した個体の濃度は80 mg/dl以上になることはなかった。このことは、血液中の中性脂質が卵巣卵の成熟に利用された可能性を示唆している。

本試験では、クルマエビの成熟を促進させるために眼柄処理とゴカイの給餌を併用した。ゴカイやイガイ等の給餌はエビ類の成熟にとって重要であるとされている(Middleditch *et al.* 1980; Harrison 1990; Yano 1993)。また、*Penaeus* 属の成熟にはn-3やn-6系の高度不飽和脂肪酸が重要であることが報告されている(Middleditch *et al.* 1980; Teshima and Kanazawa 1983)。これらのことから、眼柄処理とゴカイ給餌の相乗効果により、クルマエビの血液中の中性脂質濃度が上昇し、成熟が促進された可能性が高い。

第3節 摂餌量による親エビの適正評価

クルマエビの成熟促進や産卵誘発の効果は、成熟度が同程度であっても個体により大きく異なるため、産卵する確率の高い親エビを選別する技術は種苗生産に必要な不可欠である。クルマエビの成熟と産卵に影響する要因として、捕獲や輸送の影響が挙げられる。また、陸上水槽でのクルマエビの飼育において、水槽収容後の初期に死亡が多く、また、個体によって摂餌量が異なることが経験的に知られている。これは、クルマエビの活力が個体によって異なり、衰弱した個体は摂餌が不活発であることを示唆している。また、本章第2節において、親クルマエビの摂餌量は成熟に影響を及ぼすことが示唆された。そこで、本研究では、活力が高く成熟促進や産卵誘発効果が見込まれる親エビを選別する手法を開発するために、陸上水槽に収容直後のクルマエビの摂餌量と飼育初期の生残(試験1)、飼育期間中の摂餌量の変化と成熟(試験2)との関係を比較検討し、親エビを選別するための指標として、飼育初期の摂餌量の有効性を明らかにすることを目的とした。

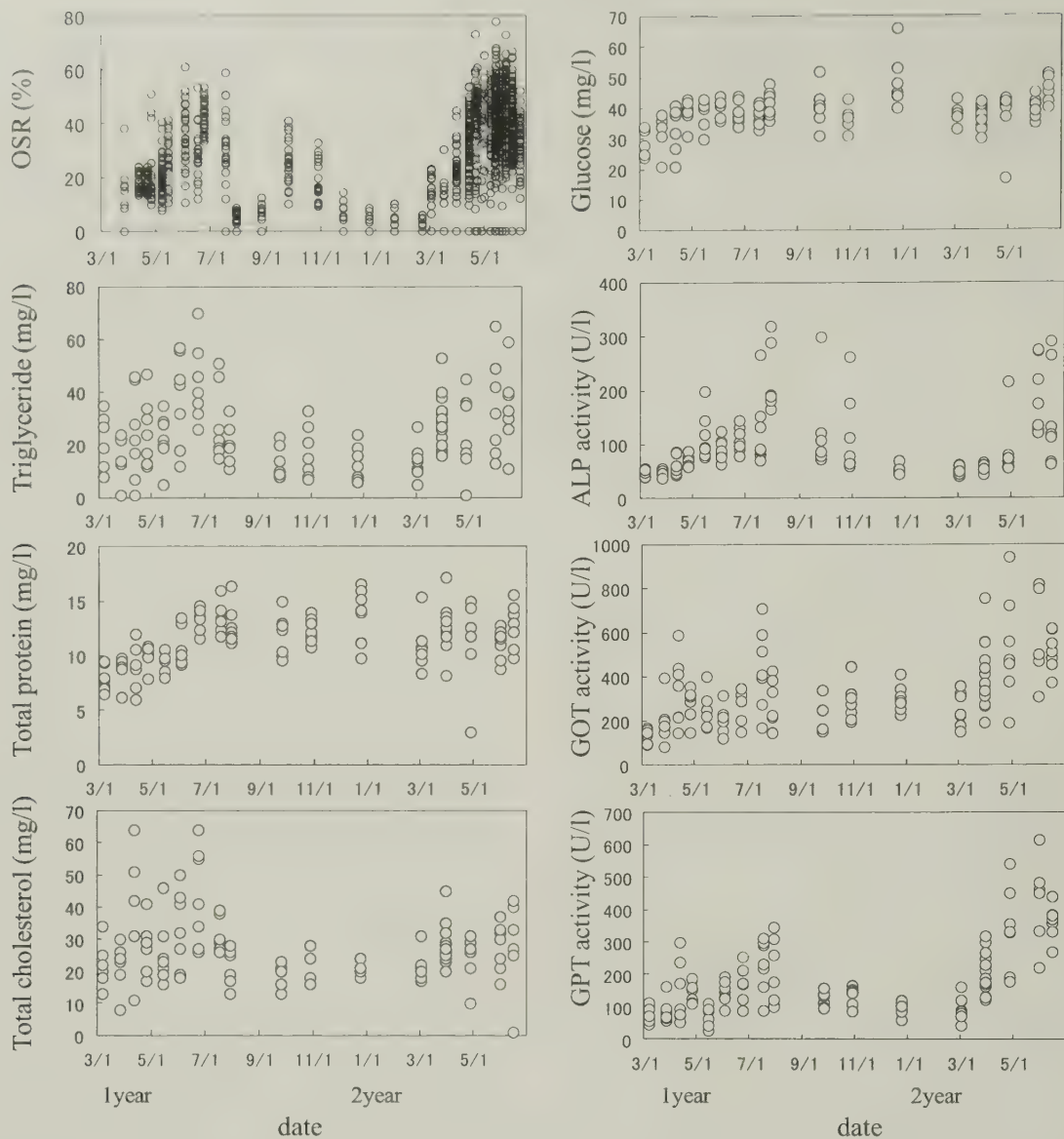


Fig. 22. Changes in maturation level and biochemical conditions in blood of Kuruma prawn reared in earthen pond.

OSR : Ovary shadow ratio (%)= ovary shadow width / body width $\times$ 100

材料と方法

試験 1 実験池で養成した12個体のクルマエビ（平均体長 182.3 ± 10.8 mm）をポリカーボネイト製水槽（容量100 l）に個体別に収容した。水槽の水温はウォーターバス方式で $22 \sim 23^{\circ}\text{C}$ に設定した。飼育水には砂ろ過海水を使用し、止水条件下でクルマエビを飼育し、毎日1回、水槽の海水を全量交換した。飼育期間中の餌料には市販の配合飼料（ヒガシマル社製 バイタルプロ成エビ用）を使用した。毎日15時以降に各水槽へ10 g ずつ給餌し、翌日の午前に残餌を回収し、その差から各個体の毎日の摂餌量を推定した。試験期間は

3日間とし、収容1日目、2日目および3日目の死亡の有無と摂餌量を調査した。

試験 2 試験には、広島県尾道市近海で刺網により漁獲されたクルマエビを用いた。漁獲後、クルマエビを百島実験施設に輸送し、 5 m^3 水槽（水温 15°C ）内に設置した小割網（ $80\text{ cm} \times 80\text{ cm}$ ）4つに、5～7尾ずつ収容した。小割網に収容した翌日に、手術用縫合糸を用いて、全ての個体の片側眼柄を結紮した。これらの個体のうち、10個体（個体番号：親エビ1～10）を試験に使用した。飼育にはポリカーボネイト製水槽（容量100L）10個を用い、1個体ずつ親エビを収容し、1

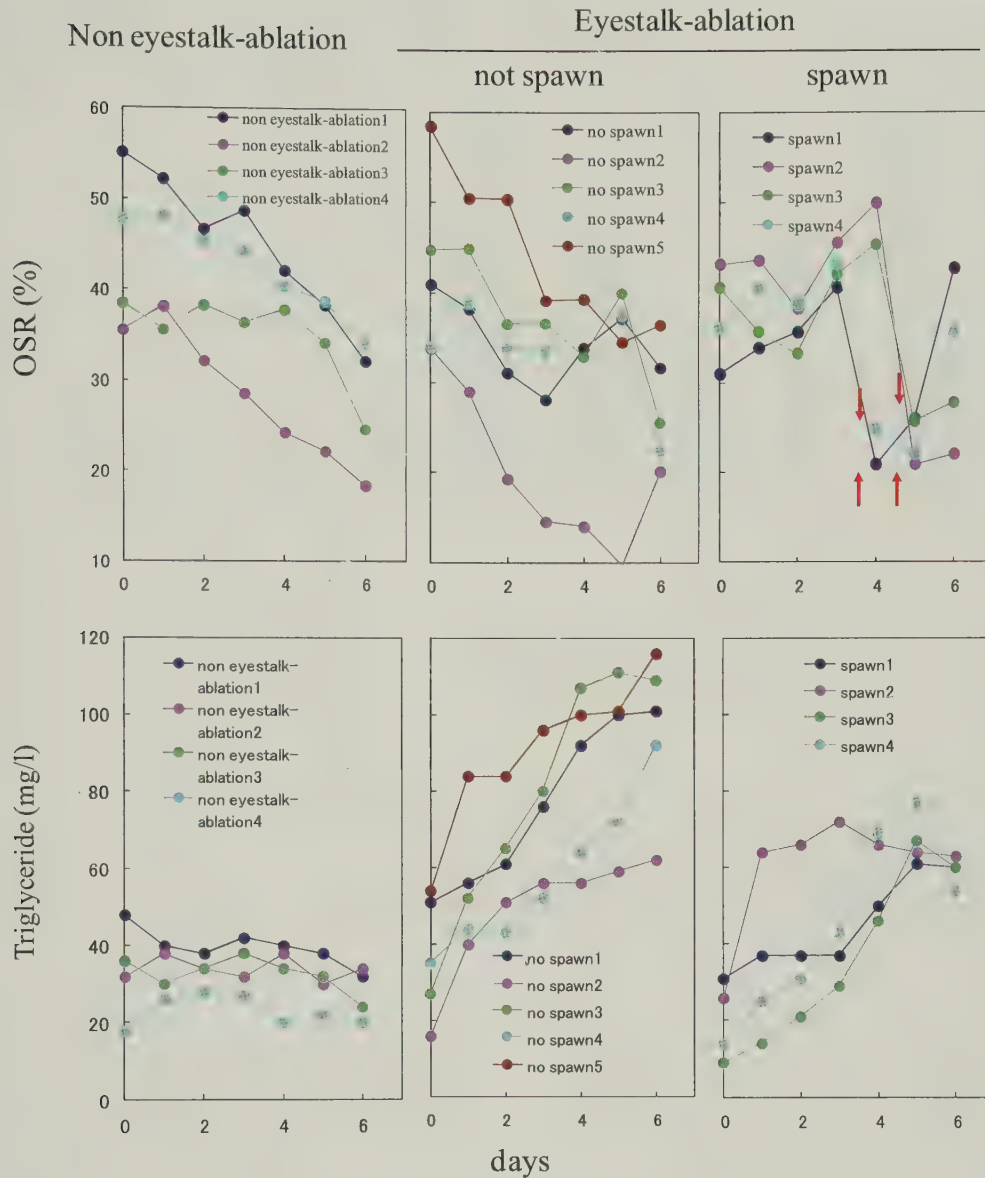


Fig. 23. Changes in maturation level and triglyceride concentration in blood of Kuruma prawn. Arrow indicates day of spawning.

OSR : Ovary shadow ratio (%) = ovary shadow width / body width $\times 100$

日に1回、生きたゴカイ（イシイソゴカイ）を30 gずつ給餌した。翌日、各水槽の残餌を回収し、給餌量と残餌量の差から摂餌量を求め、供試個体の体重（g）に対する摂餌量（g）の割合を摂餌率（%）とした。また、飼育期間中は、毎日、ノギスを用いて第1腹節と卵影の幅を測定し、個体別に卵影比（成熟度）の径日変化を調査した。飼育水温はウォーターバス方式で23℃に設定した。飼育水には砂ろ過海水を使用し、止水条件下でクルマエビを飼育し、毎日1回、水槽内の海水全量を交換した。

結 果

試験1：使用した12個体のクルマエビのうち、2個体は飼育水槽収容の翌日に死亡したため調査から除外した。調査対象とした10個体のうち、4日間の試験期間中の生残尾数は5尾（親エビ1～5）、死亡尾数は5尾（親エビ6～10）であった。死亡個体のうち、親エビ10は試験開始1日目に、親エビ7は2日目に、親エビ6、8および9は3日目（試験終了時）に死亡した。

試験終了時まで生存した親エビ1～5と、試験期間中に死亡した親エビ6～10の1日あたりの摂餌率の

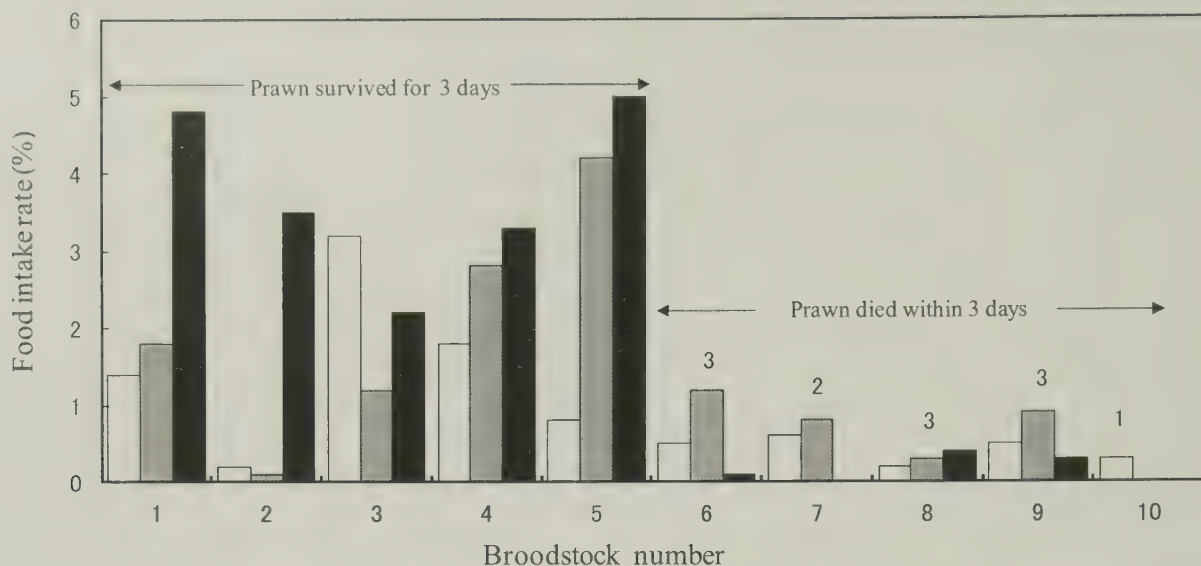


Fig. 24. Food intake rate of Kuruma prawn reared individually. Food intake rate (%) = amount of feed (g) / body weight (g) $\times$ 100. Columns show food intake rate: □0day ■1day ■2day. Numbers on the column indicate day of death.

変化を Fig. 24 に示す。同一個体であっても調査日により摂餌量は変動したが、日数の経過に伴い摂餌量が増加する傾向が認められ、試験期間中の親エビ 1 ～ 5 の摂餌率は親エビ 6 ～ 10 より顕著に高かった。そこで、両者の摂餌率を飼育日数毎に比較したところ、飼育 1 日目の平均摂餌率は、生存した親エビ 1 ～ 5 が $1.48 \pm 1.14\%$ 、死亡した親エビ 6 ～ 10 が $0.42 \pm 0.16\%$ (t 検定, $p < 0.05$)、2 日目では、それぞれ $2.02 \pm 1.56\%$ と $0.80 \pm 0.37\%$ (t 検定, $p > 0.05$)、3 日目では $3.76 \pm 1.15\%$ と $0.27 \pm 0.15\%$ (t 検定, $p < 0.05$) であり、いずれの日でも、試験終了時まで生存した個体の摂餌率が高かった。

試験 2 試験に使用した親エビの卵影比の経日変化を Fig. 25 に示す。試験開始時の供試エビの卵影比は 12.5 ～ 18.2% であった。親エビ F と親エビ C の卵影比は、それぞれ飼育 2 日目と 4 日目から高くなる傾向が認められ、飼育 4 日目と 6 日目に 46% に達した。その後、両個体とも産卵が確認され、それぞれの採卵数は 14.2 万粒と 8.5 万粒であった。親エビ C と親エビ F 以外の個体では、卵影比の上昇と産卵は確認されなかった。試験に使用した親エビの摂餌率の変化を Fig. 26 に示す。卵影比の上昇と産卵が確認された親エビ C と親エビ F では、摂餌率の増加が確認され、18 ～ 24% に達した。一方、卵影比が増加しなかった個体では、親エビ C のみで摂餌率の増加が確認された。それ以外の個体の摂餌率は 10% 以下であり、ほとんど増加しなかつ

た。

考 察

捕獲したクルマエビを陸上水槽で飼育すると、個体により摂餌率は異なるが、飼育開始 3 日目まで生存した個体の摂餌率は、飼育期間中に死亡した個体よりも高い傾向が認められた (Fig. 24)。これは、捕獲や運搬時のハンドリングによる影響を受け衰弱した個体は摂餌が不活発となり、飼育期間中の死亡率が高いことを示している。また、眼柄処理により成熟が進行し卵影比が高まった個体と、変化しなかった個体の摂餌率の変化を比較したところ、両者に違いが認められ、成熟しなかった個体の摂餌率は成熟個体に比べ低いことがわかった (Fig. 24, 25)。これらの結果から、捕獲直後の摂餌量はクルマエビの活力評価に有効な指標であり、摂餌は成熟を促進させるための重要な要因であると判断された。

したがって、天然で漁獲された未成熟な親エビを採卵用親エビとして利用する方法には、以下の方法が考えられる。1) 捕獲したクルマエビに給餌を行い、摂餌が活発な個体と不活発な個体に選別する。2) 摂餌が活発な個体に眼柄処理を施し、産卵水槽に収容し、ゴカイを給餌しながら成熟、産卵させる。3) 摂餌が不活発な個体は、しばらくの間、ゴカイを給餌しながら飼育を行い、摂餌が活発になった時点で眼柄処理を

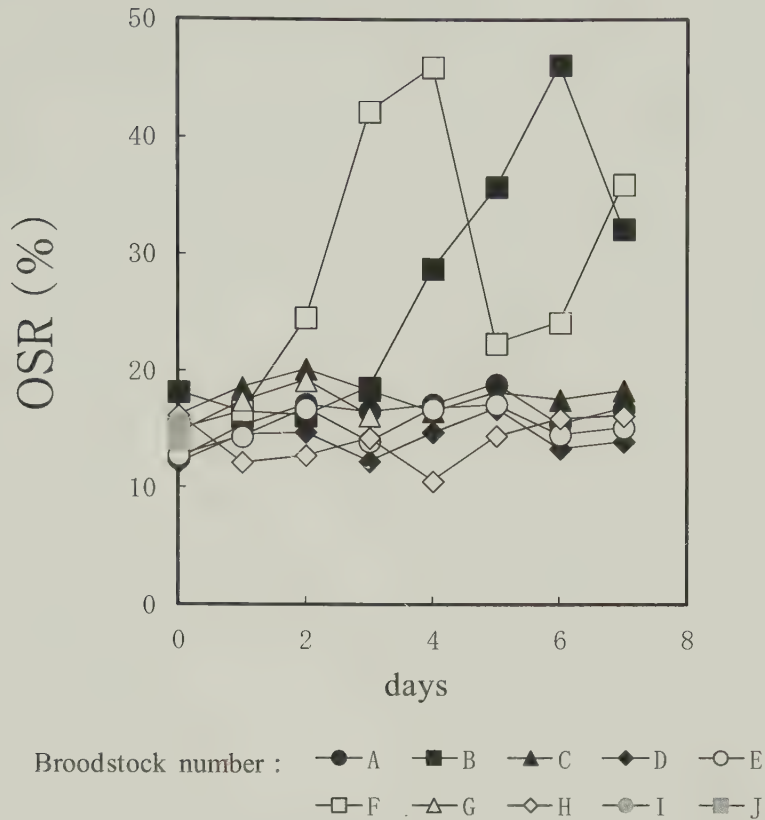


Fig. 25. Changes in ovary shadow ratio (OSR) of Kuruma prawn after eyestalk ablation.

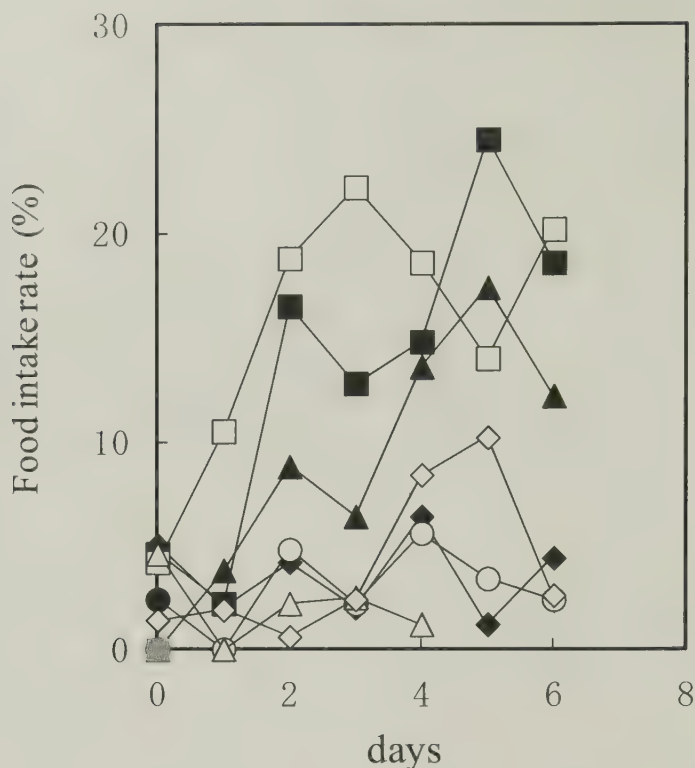
行い、産卵水槽に収容する。これらの方法を講じることにより、活力が良好で産卵する確率の高い個体のみを採卵に使用することが可能となる。

第4章 親クルマエビの産卵コントロール技術

第1節 低水温処理による産卵コントロールの検討

クルマエビ *Marsupenaeus japonicus* の種苗生産では、1回の生産で数100万尾の幼生を必要とする。そのためには、まとまった数の親エビを入手し、同時に産卵させる技術が必要である。近年、人為管理下で親エビを養成し採卵する技術が開発され、養殖用種苗の生産に利用されるようになった(宮島・松本 1996; 玉城ら 1998; 崎山ら 2003a, b; 伏屋ら 2006)。しかし、放流用種苗の生産では、天然エビが利用されているため、親エビの量的かつ安定的確保が大きな課題となっている。また、養成エビと天然エビのいずれにおいても、親エビの産卵をコントロールし、受精卵が必要な日に同調的に産卵させる技術は開発されていない。そこで、

本研究では、親エビの成熟を一旦抑制し、必要尾数を確保した時点で、これら個体を同調的に産卵させる技術(産卵コントロール技術)の開発に取り組んだ。一般的に、漁獲されたクルマエビは、低水温(12~15℃)条件の水槽に1~2日間畜養された後、出荷販売されている。水温を下げることで一時的にクルマエビの活動を抑制し、高密度収容による衰弱や体の損傷の防止を図っている。また、採卵用の親エビは畜養されたクルマエビの中から選別され、種苗生産機関へ輸送されている。低水温下で畜養された親エビは、輸送後、採卵水槽に収容すると翌日から産卵を開始する。このことから、低水温に収容することで、一時的に親エビの産卵を抑制できる可能性が考えられた。そこで本報では、産卵を一時的に抑制する手法として、成熟個体を低水温条件下におく方法(低水温処理)を試み、産卵抑制の可能性を明らかにするとともに、抑制に適正した水温と抑制可能な期間について検討した。また、産卵を誘発する方法として、宮島・松本(1996)の片眼柄の結紮法(眼柄処理)を採用し、眼柄処理を実施する時期(低水温処理前または処理後)について検討



Food intake rate (%) = amount of feeding per day (g) / body weight (g) × 100

Broodstock number : ● A ■ B ▲ C ◆ D ○ E
 □ F △ G ◇ H ● I ■ J

Fig. 26. Changes in food intake rate of Kuruma prawn given polychaete by eyestalk ablation.

Food intake rate (%) = amount of feeding per day (g) / body weight (g) × 100

した。

材料と方法

試験には、水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター（旧社団法人日本栽培漁業協会百島事業場）の素掘り池（底面積7,500 m²）において、天然親エビ由来の稚エビを養成した1歳と2歳のクルマエビ、養成親エビ由来の稚エビを飼育した2歳のクルマエビを使用した。養成期間中は市販配合飼料（ヒガシマル社または協和発酵社製）を給餌した。カゴ網を用いて試験に使用するクルマエビを素掘り池から捕獲し、その中から卵影比（卵巣幅／第1腹節幅×100）（崎山 2013）40 % 以上の個体を選別した。これらの個体を用いて、低水温処理による産卵抑制効果と低水温処理に適した水温を確認する試験（試験1）、眼柄処理の実施に適した時期（試験2）を明らかにするための試験を行った。なお、低水温処理時の飼

育には5 kL コンクリート水槽中に設置した小割網（80×80×80 cm）を、採卵水槽には0.5 kL ポリエチレン製水槽を使用した。

試験1：低水温で飼育することによってクルマエビの産卵を抑制できるかどうかを調べるために本試験を実施した。試験には、2000年5月31日、6月2日および6月15日に素掘り池から捕獲したクルマエビ（1歳エビ）を使用した。クルマエビ捕獲時の素掘り池の水温は22.6～25.9℃であった。捕獲したクルマエビを水温15～18℃に設定した水槽に収容し、採集した個体から卵影比40 % 以上の個体を選別し、生検法で卵巣卵に表層胞が確認されなかった個体の片側眼柄を手術用縫合糸で結紮した。これらの個体のうち、60尾（平均体長161±6.7 mm）を試験に使用した。低水温処理の水温を10℃と15℃の2段階に設定し（10℃区、15℃区）、それぞれの水温で0、3、5、7、および10日間飼育する計10試験区を設定した。低水温処理を行わないで直ちに産卵水槽（水温25℃）に収容した0日区を対照区

とした。それぞれの試験区に、あらかじめ眼柄処理を施したクルマエビを6尾ずつ収容し、飼育期間中、毎日、冷凍イカの切身を給餌した。設定した低水温処理期間が終了した後に、直ちにクルマエビを採卵水槽(水温25℃)へ移槽し、産卵数と産卵尾数を移送後8日目まで調査した。10℃区では、採卵水槽に収容時の水温差による影響を緩和するために、一旦、水温20℃の水槽に収容した後、翌日、25℃に加温した。各々の水温区で、産卵の見られた対照区と3、5および7日の低水温処理区の計4実験区の間で、産卵水槽に移槽後に産卵の起こった日数と個体毎の産卵数を、それぞれ一元配置分散分析で検定を行った。また、各々の実験区で使用した尾数に対する産卵個体の割合(産卵個体率)が実験区間で異なるかどうかを、Fisherの正確確率検定で比較した。有意水準はいずれも5%とした。

試験2：親クルマエビの眼柄処理を低水温処理前または処理後のいずれの時期に行う方が良いか調べるために本試験を実施した。試験には、試験1と同一群をさらに1年間養成した2歳エビを使用した。2001年5月10日、5月11日、5月18日、5月18日および5月21日に素掘り池からカゴ網を用いて捕獲し、試験1と同じ方法で選別した成熟エビ(平均体長 185 ± 6.9 mm)を試験に使用した。試験1の結果を受けて、低水温処理水温を15℃とし、片眼柄の結紮時期を低水温処理前および処理後に行う試験区(それぞれ前処理区、後処理区)を設定した。両試験区とも3、5、7および10日間の低水温処理を行う区を設け、クルマエビを5～6尾ずつ収容した(前処理区23尾、後処理区23尾)。また、眼柄処理後、低水温処理を施さないで採卵水槽に収容する対照区(24尾)を設定した。飼育期間中は冷凍イカの切り身を給餌した。設定した期間の低水温処理を終了した後、採卵水槽(20℃)へ移槽し、産卵数と産卵尾数を毎日調査した。眼柄処理のタイミング(前処理区、後処理区)と低水温飼育日数の2つの要因に対して、産卵水槽に移槽後に産卵が確認されるまでの日数と個体毎の産卵数を、それぞれ二元配置分散分析で検定を行った。要因ごとに有意差が検出された場合には、実験区間の平均値をTukey-Kramer testで比較した。また、各々の実験区で使用した尾数に対する産卵個体の割合(産卵個体率)が実験区間で異なるかどうかを、Fisherの正確確率検定で比較した。有意水準はいずれも5%とした。

結 果

試験1：各区の採卵数と産卵尾数の推移をFig. 27に示す。本試験により、眼柄処理を施したクルマエビは10

℃と15℃の低水温下では産卵は認められなかった。水温10℃と15℃の低水温処理期間が3日間、5日間および7日間の区では、産卵水槽に収容すると産卵が確認されたが、低水温処理を10日間行った区は、産卵水槽に収容しても全く産卵が見られなかった。低水温処理を行わなかった対照区では、採卵水槽収容4日目または5日目に産卵が認められた。一方、3日間、5日間および7日間の低水温処理では、低水温飼育期間中に産卵する個体は確認されず、採卵水槽収容3日目または4日目から産卵が確認された。

低水温処理による産卵への影響をみるために、10℃区と15℃区の低水温処理期間ごとの産卵までに要した日数(採卵水槽に収容してから産卵するまでの日数)、産卵個体率および1尾あたりの平均採卵数をTable 10に示す。産卵までに要した日数は、10℃区は4.3～4.8日目、15℃区は4.0～5.7日目であり、両水温区とも低水温処理期間による産卵までに要した日数に対照区との差は認められなかった(one-way ANOVA, $p>0.1$)。産卵個体率をみると、10℃区は60～80%、15℃区は73.3～80%であり、両水温区とも対照区と比べて統計的有意差は確認されなかった(Fisherの正確確率検定, $p>0.05$)。1尾あたりの平均採卵数は、10℃は7.9～10.4万粒/尾、15℃区は6.8～10.3万粒/尾であり、両水温区・低水温処理期間ともに対照区との統計的有意差は認められなかった(one-way ANOVA, $p>0.4$)。以上の結果、水温10℃と15℃とも産卵抑制が可能であるが、産卵水温との温度差が小さい15℃が適していると判断された。

試験2：眼柄処理の有無にかかわらず、低水温処理期間中に産卵は起こらなかった。前処理区、後処理区とも採卵水槽に移水槽すると、低水温処理の期間に依らず全ての試験区で産卵が確認された。眼柄処理時期の違いが産卵に与える影響を見るために、前処理区と後処理期の低水温処理期間ごとの平均産卵開始日、産卵個体率および1尾あたりの平均産卵数を集計しTable 11に示す。産卵開始日について見ると、前処理区は4.0～6.3日目、後処理区は5.0～7.5日目であり、二元配置分散分析の結果、眼柄処理のタイミングが産卵開始日に影響を与えていることが示された(two-way ANOVA, $p<0.05$)。一方、低水温処理期間の産卵開始日への影響は検出されず(two-way ANOVA, $p>0.5$)、眼柄処理のタイミングと低水温処理期間の間に交互作用は認められなかった(two-way ANOVA, $p>0.2$)。眼柄処理のタイミングが産卵開始日に影響を与えているかどうかを多重比較で検定したところ、有意差は検出できなかった(Tukey-Kramer test, $p>0.05$)。これらのことから、眼柄処理のタイミングと低水温処理の

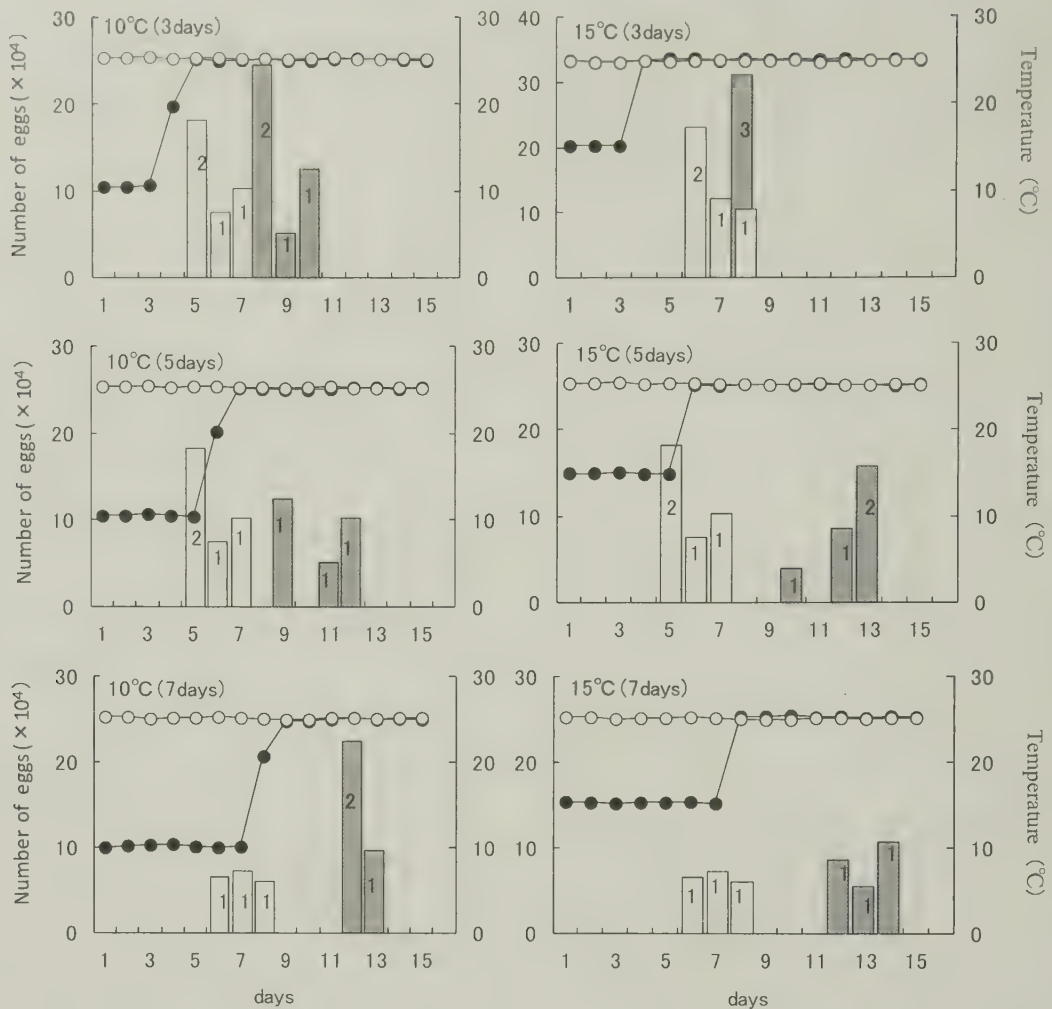


Fig. 27. Number of spawned eggs of Kuruma prawn after by eyestalk-ablation under various low temperature treatments. White columns, number of eggs from broodstocks without low temperature treatment; grey columns, various low temperature treatments (from condition 1 to 6); open circles, temperature without low temperature treatment; solid circles, temperatures of conditions 1 to 6 for spawning control. Numbers in bars indicate number of prawns that spawned. See text for the explanation of conditions 1 to 6.

期間の違いによって産卵開始日は、対照区のそれ (4.8 ± 1.2 日) と異ならないという結果となった。産卵個体率は、前処理区は50～100%、後処理区は40～86%であり、対照区との間に統計的有意差は認められなかった (Fisherの正確確率検定, $p > 0.05$)。平均採卵数を見ると、前処理区は17.6～26.0万粒/尾、後処理区は15.8～27.1万粒/尾となり、二元配置分散分析によって眼柄処理のタイミングと低水温処理の期間が産卵数に影響を与えないことが分かった (two-way ANOVA, $p > 0.5$)。以上の結果から、低水温処理後の眼柄処理は、処理前に比べて産卵開始が遅れる傾向がみられるものの、産卵誘発は処理前と処理後のいずれでも可能

であることが示された。

考 察

眼柄処理による成熟促進と産卵誘発の効果は多くのエビ類で確認され (Yano and Wyban 1993; Santiago 1977; Pervaiz et al. 2011), これは、眼柄内にある卵黄形成抑制ホルモンの産生・貯蔵・分泌を行う器官が除去されるためであると考えられている。クルマエビでは、成熟個体の大部分は卵巣卵の成熟状態が卵黄球期の状態であり、採卵水槽に収容しても産卵する個体の割合は低い (加治2003), 眼柄処理による産卵誘発

Table10. Days required for spawning, spawning incidence and number of spawned of spawned eggs of Kuruma prawn at 25°C after the treatment at low temperature (10 or 15°C) for different durations (0-7days)

Period of low-temperature treatment (days)	Days of spawning after transfer to spawning tank at 25°C		Spawning incidence (%)		Number of eggs per spawner ($\times 10^4$)	
	10°C	15°C	10°C	15°C	10°C	15°C
0 (control)	5.0 $\pm$ 1.0	5.5 $\pm$ 1.0	66.7	73.3	8.2 $\pm$ 1.5	9.0 $\pm$ 2.2
3	4.8 $\pm$ 1.0	4.0 $\pm$ 0.0	80.0	75.0	10.0 $\pm$ 4.2	10.3 $\pm$ 0.0
5	4.7 $\pm$ 1.5	5.7 $\pm$ 1.5	75.0	80.0	9.2 $\pm$ 3.7	6.8 $\pm$ 2.5
7	4.3 $\pm$ 0.6	5.0 $\pm$ 1.0	60.0	75.0	10.4 $\pm$ 1.2	8.2 $\pm$ 2.6
10	N.D.	N.D.	0	0	N.D.	N.D.

Date are expressd as mean $\pm$ SD (n=3-9). N. D., no date

Table 11. Days required for spawning, spawning incidence and number of spawned eggs of Kuruma prawn at 20°C after low-temperatu for different durations (0-11 days) wish different timimng of eyestalk-albation (before or after low-tempre treatment)

Period of low-temperature treatment (days)	Days of spawning after stocking at 20°C		Spawning incidence (%)		Number of eggs per spawner ($\times 10^4$)	
	Pre-treatment	Post-treatment	Pre-treatment	Post-treatment	Pre-treatment	Post-treatment
0 (control)	4.8 $\pm$ 1.2		66.7 $\pm$ 13.6		18.3 $\pm$ 5.0	
3	6.3 $\pm$ 2.1	7.5 $\pm$ 0.7	50.0	40.0	20.2 $\pm$ 6.4	22.7 $\pm$ 13.3
5	5.3 $\pm$ 2.6	5.8 $\pm$ 1.7	80.0	66.7	26.0 $\pm$ 8.4	22.1 $\pm$ 2.6
7	4.0 $\pm$ 1.0	7.0 $\pm$ 1.0	50.0	60.0	17.6 $\pm$ 5.5	15.8 $\pm$ 19.3
10	4.3 $\pm$ 2.8	5.0 $\pm$ 2.0	100.0	85.7	19.7 $\pm$ 3.6	27.1 $\pm$ 7.5

Date are expressd as mean $\pm$ SD (n=3-13)

効果が養成したクルマエビでも確認され、安定的な採卵技術として利用されている（宮嶋・松本1996；玉城ら1998；伏屋ら2006）。一方、天然で漁獲されたクルマエビでは、漁獲や長時間の輸送によるストレス（矢野ら1988）、高水温期には漁獲から採卵までの水温変化が影響により（水藤ら1996）、眼柄処理の効果は低いとされてきた。しかし、近年、飼育技術を改良することにより、眼柄処理を利用した天然クルマエビからの採卵が可能であることが明らかにされ、養成エビと同様に、低水温処理による産卵コントロールの利用が期待されている（崎山ら2009）。

成熟したクルマエビは、産卵しなければ数日以内に卵巣卵が崩壊するため（今ら1982）、親エビを長期間ストックすることは困難であると考えられたが、本研究により、成熟した親エビを15°C以下の低水温下に置くことで、最長14日間、産卵の抑制が可能であることが示された。しかし、1歳エビを使用した試験では、低水温下に10日間置いた個体の産卵は確認されなかつ

た。この原因が年齢や飼育環境によるものなのか明らかにすることはできなかったが、一般的な種苗生産現場では、1回の種苗生産に必要な10～100尾程度の成熟エビを数日で確保可能であり、抑制期間は1週間以内で十分であると考えられる。

低水温処理による採卵では、採卵水槽との水温差が大きいとクルマエビの産卵への影響が懸念されるが、水温10°Cと15°Cの低水温処理では、採卵水槽に収容した後の産卵個体率、1尾当たりの採卵数に有意差は認められなかった。また、水温差1～10°Cの範囲では産卵個体率への影響はないことが報告されている（水藤1996）。そのため、低水温処理の水温は採卵時の水温との差が小さい15°Cで十分であると考えられる。採卵水温では、クルマエビは生息域よりも極端に高い水温は成熟、産卵に悪影響を及ぼす可能性が示唆されている（水藤2005）。試験に使用するクルマエビを素掘り池から捕獲した時の水温は、1歳エビでは23～25°C、2歳エビでは19～21°Cであったことから、本試験では、採

卵水槽の水温を1歳エビでは25℃、2歳エビでは20℃に設定した。素掘り池では、2歳エビは1歳エビより水温が低い時期（早い時期）に成熟個体の出現が確認された。同様の現象が天然クルマエビでも確認され、早期の成熟エビは大きく、時期が遅くなるに従って小型化する傾向にあることから（今井1986；水藤 1995）、年による成熟個体出現時期の違いはクルマエビの年齢が要因の一つであると推察される。

第2節 産卵コントロール方法による実証採卵試験

本章では、親エビの成熟を一旦抑制し、必要尾数を確保した時点で、これら個体を同調的に産卵させる技術（産卵コントロール技術）について検討した。第4章第1節において、低水温処理に適した水温と眼柄処理の時期を明らかにした。本節では、低水温処理と眼柄処理を組み合わせた模擬採卵試験を行い、開発した産卵コントロール技術の実用化の可能性について検討した。

材料と方法

試験には、養成クルマエビ由来の稚エビを素掘り池で飼育した2歳エビ（平均体長 176 ± 4.9 mm）52尾を使用した。これらのクルマエビは2002年5月17日～6月1日の間に素掘り池から捕獲したものであり、捕獲日および供試尾数は、5月17日（12尾）、5月22日（10尾）、5月25日（10尾）、5月27日（6尾）、5月29日（7尾）および6月1日（7尾）であった。クルマエビ捕獲時の素掘り池の水温は19.7～21.8℃であった。捕獲後の成熟個体の選別と眼柄処理の方法は試験1、2に準じた。眼柄処理後、5～7尾ずつ小割網に収容し、水温15℃の低水温処理を行い、6月1日（最初のクルマエビを捕獲してから14日目）に水温20℃の採卵水槽に収容した。捕獲日ごとの低水温処理期間により、低水温処理14日区、10日区、7日区、5日区、3日区および0日区の6試験区を設定し、採卵水槽に収容した後、各区の産卵数と産卵尾数を調査した。

結 果

第4章第1節で得られた結果をもとに、成熟に達した親エビを低水温水槽（15℃）にストックし、必要尾数を確保してからまとめて産卵させた模擬採卵試験の結果をFig. 28に示す。この試験では、最長14日間の低水温処理を行ったが、いずれの処理期間でも産卵が確認され、産卵個体率は76.9%（52尾中40尾）、総採卵数

は914万粒、1尾あたりの採卵数は22.8万／尾であった。産卵期間は採卵水槽収容後2～8日とばらついたが、大部分は3～5日目に集中的に産卵し、この期間の採卵数は総採卵数の90%を占めた。模擬採卵試験の結果から、異なる日に捕獲した成熟エビを一旦低水温処理し、必要数を確保した後に採卵水槽へ移すことで、ほぼ同調的に採卵可能であることが示された。

考 察

成熟したクルマエビは、産卵しなければ数日以内に卵巣卵が崩壊するため（今ら1982）、親エビを長期間ストックすることは困難であるとされていたが、成熟した親エビを15℃以下の低水温下に置くことで、卵巣卵の退行を防止し、最長14日間、産卵を抑制可能であることが示された。これにより、眼柄処理と低水温処理を組み合わせた産卵コントロール方法は、クルマエビの産卵を同調させる技術として有効であることが証明された。また、この産卵コントロール技術を利用すると採卵用の親エビをストックし、受精卵を必要とする日に採卵できるため、クルマエビの計画的な種苗生産が可能になると考えられる。

第5章 総合考察

親クルマエビの養成で最も重要なことは、ウイルスに感染していない健全な親エビを量的かつ安定的に供給することである。また、種苗生産の安定化のためには、必要な数の幼生を決められた期日に供給する技術も必要である。本研究では、これらの技術開発に関する調査研究に取り組み、屋外の半開放的な素掘り池を利用して親クルマエビを大量に養成する技術、さらに、得られた親エビの産卵をコントロールすることで、計画的に幼生を供給する技術を開発した。

ウイルスに感染していない親エビを養成するためには、PRDVの水平感染と垂直感染を遮断するような対策を講ずることが重要である。垂直感染の防除として、種苗生産過程でウイルスを保有していない親エビから採卵し、さらに、ヨード剤を用いた卵の消毒を行うことが有効である（虫明ら1998；佐藤ら1999）。素掘り池でのウイルスの水平感染の防止では、素掘り池に生息する生物がウイルスを保有していないことを確認するとともに、クルマエビのストレスを軽減するため、稚エビの収容密度を低くし、十分量の給餌を行うこと、残餌量の低減や死亡個体の除去により底質環境を良好に保つことが重要である（第2章第4節）。

西日本のクルマエビの種苗生産機関では、親エビの

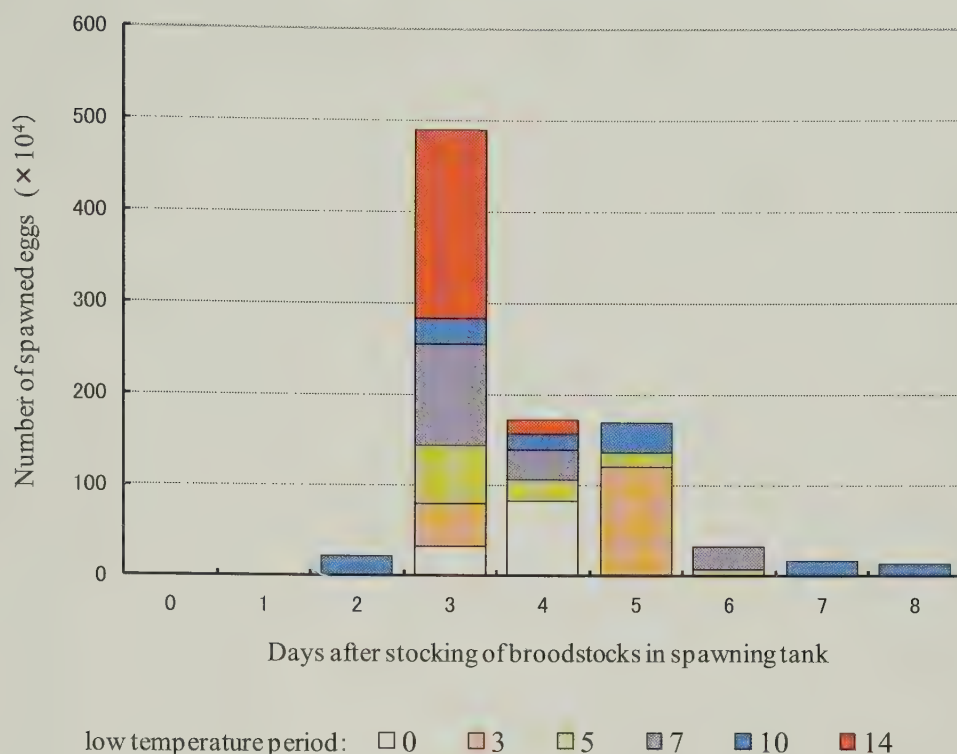


Fig. 28. Relationship between days after stocking of broodstocks in spawning tanks and number of spawned eggs from the broodstocks reared at low temperature during various periods before stocking.

入手と採卵は4～6月に実施している。養成したクルマエビを採卵に使用するためには、この時期までに成熟可能なサイズに達していなければならない。今回行った6例の養成試験のうち5例で、1歳エビは5月に体長152～160 mm、体重38～53 gとなり、成熟卵巣卵を持つ雌の最小型とされている130 mm (Minagawa et al. 2000) 以上に達したことから、産卵用親エビとして十分利用可能であると判断された。素掘り池でのクルマエビの成長は、12月～翌年3月の間に停滞するので、当歳のうちに成熟可能なサイズに育成しなければならない。そのためには、稚エビ（体長30～50 mm）の素掘り池への収容を7月までに実施すれば、年内に成熟可能なサイズに達すると期待できる。素掘り池で親エビを養成するための餌は、市販の配合飼料で十分であり、給餌量の目安は、15℃では体重の2～3%、20℃以上では5～6%が適当な値であると推察される。ただし、養成初期においては、この給餌率では単位面積あたりの給餌量が少なく稚エビに充分に行き渡らないため、20～30%が適量である。また、冬期の無給餌期間の前には水温15℃以下の時期でも2～3%量を給餌し、越冬前に十分に摂餌させておくことも重

要である。毎日の給餌は、コドラート法による現存尾数の推定値から給餌量を決定し、残餌量を確認しながら翌日の量を調整することが現実的な方法である（第2章第2節）。

素掘り池でクルマエビを養成すると、1歳時では5月から、2歳時では4月から成熟個体が出現する。成熟個体からの採卵では、生検法により卵巣卵に表層胞が確認された前成熟期または成熟期の個体のみを使用すると、採卵水槽収容の1～2日目に高い確率で産卵するが、卵巣卵に表層胞を有する個体の割合は低く、これらの個体のみで、常に十分な量の受精卵が確保できるとは限らない。成熟個体の大部分は卵巣卵が卵黄球期の状態であり、これらの個体に眼柄処理を施すと、高い確率で、処理3～5日目に産卵することが明らかとなった。眼柄処理の方法は切除法より結紮法が処理後の生残率が高い（崎山ら2009）（第2章第3節）。

採卵用の親エビはカゴ網を用いて捕獲されるが、成熟状態は個体により異なり、採卵に適した個体を選別しなければならない。この方法として、最も簡易な方法は目視による成熟度のランク分けであるが、評価基準が数値化されていないため、観察者によって評価が

異なることがある。そこで本研究では、親エビにストレスを極力与えず迅速に、客観的に成熟度を評価する方法として卵影比の測定を提案し、この値が40%以上の個体であれば8割以上の確率で産卵することを示した。卵影比を利用した成熟度評価を行うことにより、眼柄処理により産卵する個体を確実に選別することが可能になるばかりでなく、養成期間中の親エビの成熟状態の変化や、採卵に使用した親エビの成熟度を定量的に把握することができる。ところが、採卵用の親エビは捕獲や輸送の取り扱いにより衰弱した個体が含まれている可能性があり、これらの個体は産卵に寄与しないだけでなく、ウイルス等の病原体が体内で増殖していることも想定される。捕獲後、陸上水槽に収容した時点で、活力が低下した個体と摂餌が不活発な個体を速やかに除去することが重要である（第3章第1～3節）。

上記の方法により、産卵する親エビの割合を高めることができるようになった。しかし、クルマエビは幼生期の共食いが激しいので、種苗生産に使用する幼生は同じ日に生まれたサイズの揃ったものでなければならない。そこで、採卵に必要な数の親エビを十分に集めてから、生産開始日に合わせて同時に産卵させる方法として、低水温処理による産卵コントロール技術を開発した。従来、成熟したクルマエビは産卵しなければ数日以内に卵巣卵が崩壊するため（今ら1982）、親エビを長期間ストックすることは困難であると考えられたが、本研究により、成熟した親エビを15℃以下の低水温下に置くことで、最長14日間、産卵の抑制が可能であることが示された。この技術により、捕獲した採卵用の親エビを低水温（15℃）下でストックし、採卵予定の3日前に採卵水槽に収容することで、予定した期日に親エビを同調的に産卵させることが可能となった。本研究で開発した産卵コントロール技術を種苗生産の現場で利用する場合、以下の使用方法が考えられる。採卵用に確保した親エビの中で、卵巣卵に表層胞が確認された個体は無処理で産卵する確率が高いので、一旦、採卵水槽に収容し産卵させ、1回目の種苗生産に使用する。その後、産卵しなかった個体に眼柄処理を施し、次の親エビ群が確保されるまで低水温化で産卵を抑制する。産卵コントロールした親エビの産卵は水槽収容3日目から始まるので、次の親エビ群を確保する3日前に採卵水槽に収容し、2群を同時に産卵させ、2回目の種苗生産に使用する。このような方法により、未産卵個体を有効に利用することができる。また、3月～4月は卵巣卵に表層胞が確認される個体は少ないことが予想されるので、確保した全ての親エビに眼柄処理を施し、種苗生産の用意が整うまでの期

間、産卵抑制を行った後、採卵水槽に移槽し、産卵させることも可能である。（第4章第1，2節）。

本研究により、素掘り池を利用した親クルマエビの養成と、種苗生産の現場で利用可能な産卵コントロール技術が開発されたが、いくつかの問題点が残されている。素掘り池を利用した親エビの養成において、成長と成熟を制御する主な要因として水温と餌料が挙げられる。養成池内でのクルマエビの成長には、外気温に影響される水温が最も大きな作用要因であると考えられる。特に冬期の10℃以下の低水温は成長を3ヶ月間停滞させ、また、夏期の29℃以上の高水温も成長に悪影響を及ぼす（八柳・宇都宮 1976）ことが知られており、素掘り池は必ずしもクルマエビの成長に良い環境であるとはいえない。このため、水温が高くなる前に1歳の成熟個体を得るには、成長が停滞する0歳の12月までに成熟可能な大きさに成長させておくことが重要である。

養成池内では、ゴカイなどの多毛類や小型甲殻類等のベントスが自然増殖している（足立ら2003）。ベントスはクルマエビの成長や成熟に有効な餌料であり（八柳・宇都宮 1976；Naessens et al. 1997）、これらが補助的な餌となることで配合飼料の単独給餌による養成が可能であったと考えられる。しかし、養成池内に出現するベントスの種類と量は季節や年により大きく変動することから（足立ら 2002；崎山ら2005）、年によってクルマエビの成長や成熟個体出現率が異なる原因となっている可能性も考えられる。今後、素掘り池を利用した親エビ養成では、池内のベントスの発生状況を把握すると共に、積極的にこれらを定着、増殖させ餌料として利用する試みも必要である。

本研究では、クルマエビの産卵誘発方法として眼柄処理法を利用したが、活力の低下した個体に処理を行うと死亡率が上昇し、採卵できたととしても卵質の劣化が危惧されている。近年、分子生物学的手法を利用して、クルマエビの卵成熟に伴い発現する遺伝子の存在が明らかにされ（Tsutsui et al. 2002；Jasmani et al. 2002；Qui and Yamano 2005）、産卵直前の卵巣卵に出現する表層胞の構成成分に関する研究が進められている（Kim et al. 2004, 2005）。今後、親エビへの負荷の大きい眼柄処理法に代わる新たな催熟技術の開発が期待される。

謝 辞

本研究を取り纏める契機を頂き、終始懇切なる御指導、御鞭撻を賜りました長崎大学大学院生産科学研究科の萩原篤志教授に謹んで感謝の意を表します。また、

本論文の御校閲に労を取られた長崎大学水産学部環東シナ海海洋環境資源研究センターの征矢野清教授、海洋生物機能科学講座金井欣也教授、海洋資源動態科学講座阪倉良孝教授に厚くお礼申し上げます。

本研究を遂行する上で多大なご指導とご鞭撻、貴重なご助言を賜るとともに、共同研究成果の一部使用を快諾頂いた福井県立大学生物資源学部の田原大輔博士、(財)愛知県水産業振興基金の水藤勝喜博士、独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所の奥村卓二博士、山野恵祐博士、水産工学研究所の伏屋玲子博士に深く感謝いたします。本研究に関する論文の作成では独立行政法人国際農林水産業研究センター水産領域の森岡伸介博士に御指導とアドバイスを頂きました。心より感謝申し上げます。

本研究を遂行するに当たり、(社)日本栽培漁業協会の役職員の方々をはじめ百島事業場および百島栽培漁業センターの歴代の場長、職員の皆様のご協力と暖かい励ましを頂いた。特に、宮島義和技術員からは貴重なデータを快く提供していただき、また、高橋庸一場長からは試験計画の立案から論文の作成まで終始懇切丁寧な御指導をいただき、厚くお礼申し上げます。

本研究の遂行と取り纏めはもとより、数々の業務においても御配慮と御鞭撻を頂いた、独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所栽培資源部の丸山敬悟部長、岩本明雄部長、與世田兼三部長、海産無脊椎動物研究センター関谷幸生センター長に深くお礼申し上げます。また、海産無脊椎動物研究センターの職員の皆様には様々なご配慮と暖かい励ましをいただいた。これらのご厚情に対し心よりお礼申し上げます。

引用文献

足立純一 (2002) 資源添加技術開発の概要, 模擬放流, 平成11年度
日本栽培漁業協会事業年報, 328-333.
Chou, H. Y., C. Y. Huang, C. H. Wang, H. C. Chiang and C. F.
Fudinaga, M (1942) Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jap. J. Zool. **10**, 305-393.
藤田信一 (1986) クルマエビ種苗生産に使用される親エビについて. 栽培技研, **15**, 19-25.
伏屋玲子・佐野元彦・清水弘文・玉城泉也・林原毅・加藤雅也 (2006) 人工催熟によるクルマエビの再生産形質について, *Bull. Fish. Res. Agen., Supplement*, **5**, 15-20.

八柳健郎・宇都宮正 (1976) クルマエビ養殖池に出現する餌生物について. 栽培技研, **5**, 11-16.
Huberman, A (2000) Shrimp endocrinology. *A review, Aquaculture*, **191**, 191-208.
今井利為 (1986) 東京湾クルマエビの研究 - I 産卵期・生物学的最小型. 神水試研報, **7**, 1-4.
Inouye, K., K. Yamano, N. Ikeda, T. Kimura, H. Nakano, K. Momoyama, J. Kobayashi and S. Miyajima (1996) The penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), which causes penaeid acute viremia (PAV). *Fish Pathol.*, **31**, 39-45.
Jasmani S., I.Kawazoe, N.Tsutsui, T.Ohira, K.Aida, and M. N. Wilder (2002) Identification of vitellogenin synthetic site in the kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Fish. Sci.*, **68**, supplement I, 975-976.
門脇秀策 (1993) 透明度から見た養殖クルマエビの成長. 水産増殖, **41**, 61-65.
金澤昭夫・島谷周・川崎満康・柏田研一 (1970) Nutritional requirements of prawn-I. Feeding on artificial diet. 日水誌, **36**(9), 949-954.
加治俊二・今泉圭之輔 (2003) 日本栽培漁業協会志布志事業場での取り組みの変遷. クルマエビ種苗生産技術, 栽培漁業シリーズ No.9, 日本栽培漁業協会, 東京, pp.1-58.
Kim, Y. K., I. Kawazoe, N. Tsutsui, S. Jasmani, Wilder M. N., and K. Aida (2004) Isolation and cDNA cloning of ovarian cortical rod protein in kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). *Zool. Sci.*, **21**, 1109-1119.
Kim, Y. K., N. Tsutsui, I. Kawazoe, T. Okumura, T. Kaneko, and K. Aida (2005) Localization and developmental expression of mRNA for cortical rod protein (CRP) and vitellogenin (Vg) in kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. *Zool. Sci.*, **22**, 675-680.
木村武志・山野恵祐・中野平二・桃山和夫・平岡三登里・井上 潔 (1996) : PCR 法による PRDV の検出. 魚病研究, **31**, 93-98.
橘高二郎 (1971) クルマエビの養殖技術. 浅海完全養殖 (今井丈夫編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 358-422.
今 攸 (1982) クルマエビ種苗生産に供する親エビの卵巣成熟状況について. 栽培技研, **11**, 15-19.
Koshio, S., A.Kanazawa, S.Teshima and J.D.Castell (1989) Nutritional evaluation of crab protein for larval *Penaeus japonicus* fed microparticulate

- deits. *Aquaculture*, **81** (2), 145-154.
- Lightner, D. V. (1996) A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of penaeid shrimp. *Special publication of the World Aquacult. Soc.*, Barton Rounge, LA, (sections 1-7).
- Lo, C.F. (1995) Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, **23**, 165-173.
- Lo, C.F., J.H. Leu, C.H. Ho, C.H. Chen, S.E. Peng, Y.T. Chen, C.M. Chou, P. Y. Yeh, C.J. Huang, H.Y. Chou, C.H. Wang and G.H. Kou (1996a) Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.*, **25**, 133-141.
- Lo, C.F., C.H. Ho, S.E. Peng, C.H. Chen, H.C. Hsu, Y.L. Chiu, C.F. Chang, K.F. Liu, M.S. Su, C.H. Wang and G.H. Kou (1996b) White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods. *Dis. Aquat. Org.*, **27**, 215-225.
- Luis, O. J. and A. C. Ponte (1993) Control of reproduction of the shrimp *Penaeus kerathurus* held in captivity. *J. World Aquacult. Soc.*, **24**, 31-39.
- Marco, H.G., J.C. Avarre, E. Lubzens and G. Gade. (2002) In search of a Vitellogenesis-inhibiting hormone from the eyestalks of the South African spiny lobster, *Jasus lalandii*. *Invertebrate Reproduction and Development*, **41**, 143-150.
- 松永 繁 (1978) A クルマエビ. III 事業の内容とその経過, 栽培漁業技術開発の歩み, 瀬戸内海栽培漁業協会, 26-41.
- Minagawa, M., S. Yasumoto, T. Ariyoshi, T. Uemoto, T. Ueda, (2000) Interannual seasonal, local and body size variations in reproduction of the prawn *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) in the Ariake Sea and Tachibana Bay, Japan. *Mar. Biolo.*, **136**, 223-231.
- 宮島義和・松本 淳 (1996) 人工養成クルマエビを用いた生検法による採卵用親エビの成熟度判別と効率的な採卵方法. 栽培技研, **25**, 37-40.
- 虫明敬一・有元 操・佐藤 純・森 広一郎 (1998) 天然クルマエビ成体からの PRDV の検出. 魚病研究, **33**, 503-509.
- 虫明敬一 (1998) II 採卵. プリ親魚養成技術開発, 栽培漁業シリーズ No. 5, 日本栽培漁業協会, 東京. pp.19-40.
- 桃山和夫 (1982) クルマエビの伝染性中腸腺壊死症に関する研究 - 仮診断法. その他魚類および甲殻類の種苗生産過程における魚病問題, 魚病研究, **17** (3):227-228.
- 桃山和夫 (1988) クルマエビ種苗生産時に発生するバキュロウイルス性中腸腺壊死症 (BMN) の伝染源. 魚病研究, **23** (2):105-110.
- Naessens, E., P. Lavens., L. Gomez., C.L. Browdy., K. McGovern-Hopkins., A.W. Spencer, and D. Kawahigashi (1997) Maturation performance of *Penaeus Vannamei* co-fed Artemia biomass preparations. *Aquaculture*, **155**, 87-101.
- 中野平二・渡邊 博・梅沢 敏・桃山和夫・平岡三登里・井上 潔・大迫典久 (1994) 1993年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死: 発生状況および感染実験. 魚病研究, **29**, 135-139.
- 日本栽培漁業協会 (1982) 成体の確保と採卵. 昭和56年度日本栽培漁業協会事業年報, 7-58.
- Peng, B., J. Ren, J. Shen, G. Zhou, H. Gu, Y. Shen, G. Zheng and Z. Ggong (1995) The study on baculovirus-caused disease of prawns (*Penaeus chinensis*) in Shanghai suburb. *Chinese J. Virol.*, **11**, 151-157.
- Pervaiz, P. A, S. M. Jhon, M. Sikdar-Bar, H. A. Khan and A. A. Wani (2011) Studies on the effect of unilateral eyestalk ablation in maturation of gonads of a freshwater prawn *Macrobrachium dayanum*. *World Journal of Zoology*, **6**, 159-163.
- Rajendran, K. V., K. K. Vijayan, T. C. Santiago and R. M. Krol (1999) Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. *J. Fish Dis.*, **22**, 183-191.
- 崎山一孝・虫明敬一・西岡豊弘 (2002) 素掘池を利用した PRDV フリー親クルマエビの養成. 栽培技研, **29**, 79-83.
- 崎山一孝・宮島義和・足立純一 (2003a) 素掘池において親養成したクルマエビの成長と生残. 栽培技研, **30**, 7-13.
- 崎山一孝・宮島義和・足立純一 (2003b) 素掘池で養成したクルマエビの成熟と産卵. 栽培技研, **30**, 49-53.
- 崎山一孝・浜田和久・虫明敬一 (2003) プリ産卵親魚

- の血液性状検査とふ化仔魚の耐性分分析に基づく健全性評価について. 栽培漁業センター技報, 1, 27-31.
- 崎山一孝・清水大輔・田原大輔 (2013) 卵影比によるクルマエビの成熟度評価. 水産増殖, 印刷中.
- Santiago, A. C. (1977) Successful spawning of cultured *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation. *Aquaculture*, 11, 185-196.
- 佐藤 純・虫明敬一・森広一郎・有元 操・今泉圭之輔・西澤豊彦・室賀清邦 (1999) クルマエビの種苗生産過程における PAV の発生状況. 魚病研究, 34, 33-38.
- 茂野邦彦 (1969) クルマエビの養殖技術に関する諸問題. 水産研究業書, 19, pp. 1-96.
- Soyez, D., Van Deijnen, J. E. and Martin, M. (1987) Isolation and characterization of a vitellogenesis-inhibiting factor from sinus gland of the lobster, *Homarus americanus*. *Journal of Experimental Zoology*, 244, 479-484.
- 水藤勝喜 (1995) 愛知県一色産クルマエビ種苗生産用親エビについて - I, 漁獲と供給の現状. 栽培技研, 24, 9-17.
- 水藤勝喜 (1996) 愛知県一色産クルマエビ種苗生産用親エビについて - II 産卵の効率化に関する検討. 栽培技研, 24, 75-81.
- 水藤勝喜・荒川哲也・伊藤英之進 (1996) 生検法 (Biopsy 法) による種苗生産用親クルマエビの成熟度観察. 栽培技研, 25, 27-35.
- 水藤勝喜 (2005) 天然の親クルマエビを用いた採卵の効率化に関する研究. 学位論文, 東京大学, 東京, 87pp.
- 田原大輔 (2002) クルマエビ (*Penaeus japonicus*) のプロスタグランジン測定系の開発とその生理作用に関する研究. 学位論文, 北海道大学, 北海道, 137pp.
- Takahashi, Y., T. Itami, M. Maeda, N. Suzuki, J. Kasornchandra, K. Supamattaya, R. Khongpradit, S. Boonyaratpalin, M. Kondo, K. Kawai, R. Kusuda, I. Hirono and T. Aoki (1996) Polymerase chain reaction (PCR) amplification of bacilliform virus (RV-PJ) DNA in *Penaeus japonicus* Bate and systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV) DNA in *Penaeus monodon* Fabricius. *J. Fish Dis.*, 19, 399-403.
- 玉城英信・村越正慶・喜屋武みつる (1998) 養殖クルマエビの母エビ養成 (甲殻類増養殖試験). 平成8年度沖縄県水産試験場事業報告書, 147-154.
- Tsutsui, N., I. Kawazoe, T. Ohira, S. Jasmani, W. J. Yang, M. N. Wilder, and K. Aida (2002) Vitellogenin of the kuruma prawn: the deduced primary structure and gene expression. *Fish. Sci.*, 68, Supplement I, 973-974.
- Teshima S., A. Kanazawa and H. Okamoto (1973) Variation in lipid classes during the molting cycle of the prawn, *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.*, 39(2) :129-136.
- 脇秀策・田中啓陽 (1993) 透明度から見た養殖クルマエビの成長. 水産増殖, 41, 61-65.
- Wongteerasupaya, C., J. E. Vickers, S. Sriurairatana, G.L. Nash, A. Akarajamorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon (1995) A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.*, 21, 69-77.
- Yano, I. (1995) Final oocyte maturation, spawning and mating in penaeid shrimp. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 193, 113-118.
- Yano, I and James A. Wyban (1993) Effect of unilateral eyestalk ablation on spawning and hatching in *Penaeus vannamei*. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, 22, 21-25.
- 矢野 勲 (1988) II. 交尾・産卵. 4クルマエビ属. 水産学シリーズ, エビ, カニ類の種苗生産, 恒星社厚生閣, pp.54-63.

水産資源研究のための数学特論

赤嶺 達郎*

Special Lecture of Mathematics for Fish Stock Analysis

Tatsuro AKAMINE*

Abstract : There are some mistakes for the negative binomial distribution and the log-binomial distribution in the economy and the ecology. The corrections of these are presented, and the Bayesian statistical methods using the highest density region and the probability matching prior distribution are explained. The mathematics that are the quadrat method, the hypergeometric distribution, the random walk model, the gamma and beta functions, the chi-squared distribution, are explained. These are backgrounds of statistical method of fisheries science, and knowledge of these helps us to study fish stock analysis.

キーワード : 負の二項分布, 対数正規分布, 最高確率密度区間, 確率一致事前分布, ランダム・ウォーク

水産資源研究における数理モデルおよび統計モデルについて、筆者は既にテキストを2冊出版しているが(赤嶺, 2007, 2010)、価格を押さえる必要から数学的に専門的な部分は割愛せざるを得なかった。そのような専門的ないくつかの項目や補足事項についてこの総説で解説する。それらについての解説書や専門書は数多く出版されており、インターネットでも容易に情報を入手できる時代である。しかし単に知識を得るだけでは使い物にならない。長沼(2011)にあるような直感的に理解できる明瞭な説明が必要である。また純粋数学では重要な事項であっても、応用上ほとんど必要ないものも多い。それらを見分ける能力を養う上からも、ある程度の知識は必要である。とりあえず先に進んで、全体を俯瞰するような態度も研究を遂行する上で重要である。

生態学的な知見を得るだけなら、数式がない渡辺(2012)のような良書を読むだけで十分である。しかし水産分野においてもデータを用いて研究する際には、統計的な検定や推定が不可欠となっている。マニュアル通りに解析すれば通用する分野もあるが、ほとんどの分野でそのデータごとに数理モデルを作成して厳密

な統計処理をすることが要求される。生態学の分野ではそのような教科書として島谷(2012)がある。ここでは数理モデルから統計モデルへ、AIC(赤池の情報量規準)からベイズ統計へという2つの流れが示されている。水産分野においても今後はこのような研究が主流になると期待される。

最初の第1章では負の二項分布と対数正規分布について解説する。確率についての初歩的な内容であるが、解釈を間違った書物が散見されるからである。次の第2章では赤嶺(2010)の補足として具体的な計算事例をいくつか解説する。水産分野では必要以上に数式アレルギーの人が多く見受けられる。この総説の後半では非常に多くの数式が出てくるが、眺めるだけでもよい。使う必要が出てくれば、自然に理解できるようになるからである。また他分野の研究者と共同研究を行う際にも、このような知識は有益となるだろう。

最近、生態学において確率微分方程式に基づく絶滅確率の推定方法が提示されており(Hakoyama and Iwasa, 2000)、水産資源についても検討する必要性が生じてきている。しかし確率微分方程式はルベグ積分に関係していて、正確にイメージすることは難しい。

そこで確率や統計についての基礎的な概念や歴史的事項について付録で簡単に解説した。この分野の専門書は非常に難しく、逆に入門書は易しすぎる。長沼(2011)が指摘しているように、厳密さよりもイメージをつかむことの方が重要である。

第1章 負の二項分布と対数正規分布

二項分布はもっとも基本的な確率分布であり、これから派生する負の二項分布や対数正規分布も基本的な確率分布であるが、生態学関係において数学的な誤りが散見される。ここではこれらの誤りについて解説するとともに、関連してベイズ統計学におけるHDR (Highest Density Region: 最高確率密度区間) とPMP (Probability Matching Prior: 確率一致事前分布)、およびランダム・ウォークに関する基本事項について解説する。

負の二項分布

二項分布は成功率 p 、総試行数 n のとき、成功数 r の確率で、

$$\text{Bi}(r; n, p) = \binom{n}{r} p^r (1-p)^{n-r} \quad (1.1)$$

と定義される。ここでセミコロン (;) の左側が確率変数、右側がパラメータ (母数)、

$$\sum_{r=0}^n \text{Bi}(r; n, p) = 1 \quad (1.2)$$

である。なお

$$\binom{n}{r} = \frac{n!}{r!(n-r)!} = \frac{n^{(r)}}{r!} \quad (1.3)$$

は組合せ数である。ここで $n^{(r)}$ は Aitken の記号と呼ばれ、

$$n^{(r)} = n(n-1) \cdots (n-r+1) \quad (1.4)$$

である (安藤, 2001)。

一方、負の二項分布は成功率 p のとき、 r 回成功するまでの総試行数 n の確率で、

$$\text{NB}(n; r, p) = \binom{n-1}{r-1} p^r (1-p)^{n-r} \quad (1.5)$$

と定義され、

$$\sum_{n=r}^{\infty} \text{NB}(n; r, p) = 1 \quad (1.6)$$

である。これは二項分布と以下の関係がある。

$$\text{NB}(n+1; r+1, p) = \binom{n}{r} p^{r+1} (1-p)^{n-r} = p \text{Bi}(r; n, p) \quad (1.7)$$

これより次の総和公式が成立する (赤嶺, 1988)。

$$\sum_{i=0}^r \text{Bi}(i; n, p) = \sum_{j=r}^{\infty} \text{NB}(j+1; r+1, p) \quad (1.8)$$

これは竹内・藤野 (1981) によると、ほとんど自明な公式で「 $r+1$ 回の成功が起こるまでに $n+1$ 回の試行を必要とするということは、 n 回目までの試行では高々 r 回の成功しか起こらなかったということ」を意味している。

ところで Sober (2008) は二項分布と負の二項分布における検定の違いを紹介している。 $n=20, r=6$ の場合に帰無仮説「 $H_0: p=0.5$ 」を検定すると、

(a) 二項分布では $r=0 \sim 6$ および $14 \sim 20$ の確率は 0.115。

(b) 負の二項分布では $n=20 \sim \infty$ となる確率は 0.0319。

これより $\alpha=0.05$ で (a) は棄却できないが、(b) は棄却できると判定される。これは奇妙な結果である。また確率の値が大きく異なるが、原因は何だろうか？

じつはこのような指摘は既に繁樹 (1985) にある。二項分布における p の不偏推定量は r/n であるが (この場合は $6/20=0.3$)、負の二項分布における p の不偏推定量は $(r-1)/(n-1)$ である (この場合は $5/19=0.263$)。同じデータを得ても、調査手法およびモデルによって不偏推定が異なってしまうのである。前者はあらかじめ試行回数を 20 回に決めて試行したところ、たまたま 6 回成功した場合で、後者はあらかじめ成功数を 6 回と決めて試行したところ、たまたま 20 回目で終了した場合である。なお後者の不偏推定量は演習問題として Hoel (1971) や安藤・門脇 (2004) に提示されているので、以下に示す。

$$\begin{aligned} E\left(\frac{r-1}{n-1}\right) &= \sum_{n=r}^{\infty} \frac{r-1}{n-1} \text{NB}(n; r, p) \\ &= p \sum_{n=r}^{\infty} \binom{n-2}{r-2} p^{r-1} q^{n-r} = p \end{aligned} \quad (1.9)$$

この問題では成功率 p の検定を行うのに、前者では成功数 r の確率分布を利用し、後者では総試行数 n の確率分布を利用している。単純に考えれば、 p の推定値 r/n は二項分布では不偏であり、負の二項分布では偏っているのであるから、この問題では二項分布を用いるのが妥当である。これは極端な例を考えると理解しやすい。 $p=0$ のときに二項分布では正しく推定されるが、負の二項分布では永遠に試行しなくてはなら

ない。また負の二項分布において $r = 1$ と設定して $n = 1$ というデータが得られたとき、これから $p = 1$ と推定するのはかなり乱暴である。

Table 1. Probability (A) and cumulative probability (B) of the binomial distribution when $n=20$ and $p=0.5$.

r	A	B
0	0.00000	0.00000
1	0.00002	0.00002
2	0.00018	0.00020
3	0.00109	0.00129
4	0.00462	0.00591
5	0.01476	0.02069
6	0.03696	0.05766
7	0.07393	0.13159

負の二項分布では「 n 回目は必ず成功」する。したがって p を検定する目的で負の二項分布を用いる場合には、「 n 回目のデータを除く」必要がある。表計算ソフトを用いて検算してみよう。二項分布では $n = 20$, $p = 0.5$ のとき Table 1. となる。 $r = 0 \sim 6$ の確率が 5.766% だから、片側 2.5% の棄却域では棄却できない。一方、負の二項分布では $r = 7$, $p = 0.5$ のとき Table 2. となる。

$n = 21 \sim \infty$ となる確率は $0.057659 (= 0.115318 / 2)$ となるから、(a) と結果が完全に一致する。ただし厳密に棄却域を考えるのであれば、 $n = 7$ の確率の方が $n = 21$ の確率よりも小さいので、棄却域は $n = 7$, $21 \sim \infty$ として確率 0.0655 とすべきである。これは 5% よりも大きいから棄却できない。以上のように両者の検定結果は一致する。検定結果がほとんど一致するのは (1.8) 式が成立しているためである。これについてはベイズ統計の立場から「枠どり法」の節で検討する。

ベータ分布の利用

成功率 p を検定するためにベイズ統計を用いるのであれば、直接 p の確率分布を考えた方が簡単である。 p の事前分布を $p = 0 \sim 1$ における一様分布と仮定すると、事後分布はベータ分布となる。0.01 きざみで表計算ソフトを用いて計算すると、Table 3. となる。こ

Table 2. Probability (A) and cumulative probability (B) of the negative binomial distribution when $r=7$ and $p=0.5$.

n	A	B	n	A	B
7	0.00781	0.00781	15	0.09164	0.69638
8	0.02734	0.03516	16	0.07637	0.77275
9	0.05469	0.08984	17	0.06110	0.83385
10	0.08203	0.17188	18	0.04721	0.88106
11	0.10254	0.27441	19	0.03541	0.91647
12	0.11279	0.38721	20	0.02588	0.94234
13	0.11279	0.50000	21	0.01848	0.96082
14	0.10474	0.60474	22	0.01294	0.97376

れより $p = 0.14 \sim 0.50$ の区間 (HDR) の確率が $96.09 - 2.02 = 94.07\%$ となる。したがってこの場合も $p = 0.50$ は 95% HDR 区間に含まれているので棄却できない

p と r については

$$n \int_0^p \text{Bi}(r; n-1, t) dt = \sum_{i=r+1}^n \text{Bi}(i; n, p) \quad (1.10)$$

または

$$(n+1) \int_0^p \text{Bi}(r; n, t) dt = p \text{Bi}(r; n, p) + \sum_{i=r+1}^n \text{Bi}(i; n, p) \quad (1.11)$$

という関係がある。これは p の下側確率と r の上側確率がほぼ一致することを示している。Dey and Rao (2005) に「事後確率と被覆確率とが正確にもしくは近似的に一致するような事前確率」として PMP (Probability Matching Prior: 確率一致事前分布) が定義されている。したがって p の事前分布として一様分布を採用すれば PMP となる。

ベイズ統計では事後分布における区間推定に HPD (Highest Posterior Density Region: 最高事後密度領域) を採用することが多い (Dey and Rao, 2005)。これは繁樹 (1985) では最高密度信頼領域 (Highest

Credibility Density Region) と呼ばれ、渡部 (1999) では HDR (Highest Density Region: 最高密度領域) と呼ばれている。伝統的統計学では信頼区間の推定において便宜的に確率分布の片側 $\alpha/2$ 点を用いることが多かったが、ベイズ統計における事後分布と同様に最高確率密度区間を採用する方がよい (区間の幅が最短となるから)。ここでは事後分布に限定しないで、一般の確率分布において HDR (Highest Density Region) と呼ぶことにする。このときベイズ統計の事後分布と伝統的統計学の信頼区間とで、片側確率が一致するという条件では両者の HDR は必ずしも一致しない (赤嶺, 2002)。したがって PMP は絶対的な条件ではなく、「望ましい性質の1つ」である (Dey and Rao, 2005)。

なお片側確率が一致する性質を用いて二項分布の「正確な検定」や推定を、 F 分布またはベータ分布で行う手法がある。同様にポアソン分布ではカイ2乗分布またはガンマ分布を用いる。証明は小寺 (1986) にある。片側検定や片側推定のときのみ正確で、HDR では一致しない。また松原 (2010) はベイズ統計の歴史に詳しいが、HDR や PMP について言及していない。

枠どり法

枠どり法は方形枠などを用いて採集した個体数から調査域全体の総個体数を推定する方法で、数学モデルとして部分観察法や抽出法と同一である。これと同じ考え方で、ある湖に生息する魚の総個体数 n を推定してみよう。漁獲率 p で漁獲したところ r 尾が漁獲されたとき、 n の確率分布を求める問題である。このとき n と p をパラメータ、 r を確率変数とするのが自然である。つまり枠どり法を何回も復元試行した場合、採集尾数 r は変動するが、総個体数 n は変動しない。したがって二項分布モデルを適用するのが妥当で、伝統的統計学では帰無仮説 $H_0: n = n_0$ を立てて信頼区間を推定する。一方、ベイズ統計では「 n の事前分布を一様分布と仮定」して n の事後分布を求める。これが負の二項分布と一致するわけである (赤嶺, 1988, 2002, 2007, 2010)。

このことは以下のように解釈できる。漁獲率 p と漁獲尾数 r は既知である。最初に湖の魚全部 (n 尾) を生け捕りして、1尾ずつ順番に確率 p で漁獲、確率 $1-p$ で再放流すると考える。このままでは最後の1尾を漁獲したか再放流したか不明なので負の二項分布を適応できない。そこで n 回試行した後、「 $n+1$ 回目に $r+1$ 尾目を確率 p で漁獲した」と考える。それより前は「 n 回の試行で r 尾が漁獲された」わけだから、 n の

Table 3. Probability (A) and cumulative probability (B) of the beta distribution when $r=6$ and $n=20$.

p	A	B
0.135	0.00647	0.020208
0.145	0.00844	0.028648
0.285	0.03981	0.40929
0.295	0.04020	0.44948
0.305	0.04020	0.48968
0.315	0.03982	0.52950
0.495	0.00840	0.96088
0.505	0.00716	0.96803

確率分布は負の二項分布 (1.7) 式で与えられる。これは事前分布「 n は $r \sim \infty$ で一様分布」を仮定して通常の二項分布を用いるベイズ統計モデルの事後確率と同一である。

ここで n の事前分布を一様分布と仮定しているが、これは従来「無情報事前分布」と解釈されることが多かった。これは知識が欠けている状態を示す事前分布で、通常は一様分布が採用される (繁樹, 1985)。しかし赤嶺 (2007, 2010) で扱っているベイズ統計モデルは、この場合も含めすべて PMP (Probability Matching Prior) である。

超幾何分布

超幾何分布は

$$HG(r; n, M, N) = \frac{\binom{M}{r} \binom{N-M}{n-r}}{\binom{N}{n}} \quad (1.12)$$

と定義され、

$$\sum_{r=0}^n HG(r; n, M, N) = 1 \quad (1.13)$$

である。Link and Barker (2010) には超幾何分布において M の事前分布を一様分布と仮定した場合の事後分布

$$\begin{aligned} \text{Post}(M; r, n, N) &= \frac{\frac{\binom{M}{r} \binom{N-M}{n-r}}{\binom{N}{n}} \frac{1}{N+1}}{\sum_{M=0}^N \frac{\binom{M}{r} \binom{N-M}{n-r}}{\binom{N}{n}} \frac{1}{N+1}} \\ &= \frac{\binom{M}{r} \binom{N-M}{n-r}}{\sum_{M=r}^{N-n+r} \binom{M}{r} \binom{N-M}{n-r}} \quad (1.14) \end{aligned}$$

が (6.4) 式として提示されていて、その下に数値表 (Table 6.1) も載っている。しかしこの式の分母は

$$\sum_{M=r}^{N-n+r} \binom{M}{r} \binom{N-M}{n-r} = \binom{N+1}{n+1} = \frac{N+1}{n+1} \binom{N}{n} \quad (1.15)$$

である (赤嶺, 2002)。したがって

$$\text{Post}(M; r, n, N) = \frac{n+1}{N+1} HG(r; n, M, N) \quad (1.16)$$

のように簡単に表せる。

一様分布が常に PMP (Probability Matching Prior) になるわけではない。超幾何分布の N については事前分布

$$\pi(N) = \frac{M+1}{(N+1)(N+2)} \quad (1.17)$$

が PMP である (赤嶺, 2002, 2007, 2010)。

対数正規分布

対数正規分布の定義は、確率変数 X の対数が正規分布に従うことで、

$$\ln X \sim N(\mu, \sigma^2) \quad (1.18)$$

と表わされる。 $y = \ln x$ とおくと、確率の変数変換公式 $P(y) dy = P(x) dx$ より、

$$P(y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left[-\frac{(y-\mu)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (1.19)$$

および

$$\begin{aligned} P(x) &= P(y) \frac{dy}{dx} = \frac{P(\ln x)}{x} \\ &= \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2} x} \exp\left[-\frac{(\ln x - \mu)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (1.20) \end{aligned}$$

となる。これが対数正規分布の確率密度関数である。

これより

$$\text{Mode}(x) = \exp(\mu - \sigma^2) \quad (1.21)$$

$$\text{Median}(x) = \exp(\mu) \quad (1.22)$$

$$E(x) = \exp\left(\mu + \frac{\sigma^2}{2}\right) \quad (1.23)$$

$$V(x) = \exp(2\mu + \sigma^2) (\exp(\sigma^2) - 1) \quad (1.24)$$

を得る。

生態学で広く用いられている推移行列モデルでは、個体群サイズ N および最大固有値 λ は対数正規分布に従う。赤嶺 (2010) の第 7 章で推移行列モデルについて検討したが、これについては Akamine and Suda (2011) にまとめている。ここではより単純な 1 変数モデル

$$N(t+1) = N(t) \lambda(t) \quad (1.25)$$

で検討してみよう。両辺の対数をとると

$$\ln N(t+1) = \ln N(t) + r(t) \quad (1.26)$$

となる。ここで $r(t) = \ln \lambda(t)$ は内的増加率である。例として「平均値のパラドックス」をとりあげる (吉

村, 2012)。このモデルでは良い環境のとき $\lambda(t) = \alpha = 3.9$ で増加し、悪い環境のとき $\lambda(t) = \beta = 0.1$ で減少する。良い環境と悪い環境がランダムに起きると仮定すると、期待値は算術平均 $E = (\alpha + \beta)/2 = 2$ となるから増大するはずなのに、幾何平均が $\sqrt{\alpha\beta} = 0.6245$ となるため減少する、というパラドックスである。

じっさいに表計算ソフトを用いて $N(0) = 1$ のとき $N(5)$ を求めてみよう。これは

$$E^5 = \frac{(3.9 + 0.1)^5}{2^5}$$

(1.27)

を展開すればよい。結果を Table 4. に示す。一方、 $\ln N$ は「ランダム・ウォーク」なので二項分布に従うが、 $\ln \alpha = 1.361, \ln \beta = -2.303$ なので、

$$\mu = \frac{\ln \alpha + \ln \beta}{2} t, \quad \sigma^2 = \frac{(\ln \alpha - \ln \beta)^2}{4} t$$

(1.28)

の正規分布で近似できる、これより $t = 5$ のとき、正規分布 $\text{Normal}(-2.354, 16.777)$ となる。じっさい Table 4. における $\ln N$ の標本分散は 16.777 である。この正規分布において変動係数は

$$CV = \frac{\sigma}{\mu} = \frac{1.8318\sqrt{t}}{0.4708t} = \frac{3.891}{\sqrt{t}}$$

(1.29)

となっている。したがって $t \rightarrow \infty$ のとき $CV \rightarrow 0$ となる。この正規分布について「連続補正」して表計算ソフトを用いて確率（面積）を求めると、Table 5. のよ

うになる。かなり良い近似である。表計算ソフトには累積正規分布が組込み関数として用意されているので、簡単に計算できる。

しかし対数正規分布では積分区間が大きく変化することに注意する必要がある。一見しただけでは対数正規分布が、対数値が二項分布に従う確率分布の近似になっているとは判断できない。ここで対数値が二項分布に従う確率分布を「対数二項分布」と呼ぶことにしよう。つまり

$$\ln X \sim \text{Bi}(n, p)$$

(1.30)

である。先ほどの式を対数正規分布に用いると、

平均	$e^{6.034} = 417.4$
分散	$e^{12.07} (e^{16.78} - 1) = 3.363 \times 10^{12}$
メディアン	$e^{-2.354} = 0.09499$
モード	$e^{-19.13} = 0.00000000492$

を得る。一方、 N の度数分布 (Table 4) から計算すると、

平均	32
標本分散	24499
メディアン	$(0.5932 + 0.01521)/2 = 0.3042$
モード	0.5932, 0.01521

となっていて、ほとんど一致していない。これは対数二項分布と対数正規分布の差に原因がある。

従来は $\ln N$ が正規分布に従うため、正規分布で平均値を求めたり区間推定を行ったりしていた。しかしそ

Table 4. Values of the random walk model.

	N	$\ln N$	frequency	probability
	902.2	6.805	1	0.03125
	23.13	3.141	5	0.15625
	0.5932	-0.5222	10	0.3125
	0.01521	-4.186	10	0.3125
	0.00039	-7.849	5	0.15625
	0.00001	-11.51	1	0.03125
total	1024	-75.33	32	1
mean	32	-2.354		

Table 5. Values approximated to the normal distribution in the random walk model.

ln N	interval	N	interval	probability
6.805	4.973~8.637	902.2	144.5~5634	0.03317
3.141	1.310~4.973	23.13	3.704~144.5	0.14873
-0.5222	-2.354~1.310	0.5932	0.09499~3.704	0.31446
-4.1858	-6.018~-2.354	0.0152	0.002436~0.09499	0.31446
-7.849	-9.681~-6.018	0.00039	0.0000624~0.002436	0.14873
-11.513	-13.345~-9.681	0.00001	0.0000016~0.0000624	0.03317

うすると実際の対数二項分布を用いた場合と値が大きく異なってしまう場合がある。対数二項分布のグラフを表計算ソフトで作図して解析するほうがよい。なお幾何平均と算術平均の差の解釈は巖佐（1990）に解説されているように「移動分散の適応的意味」と解釈するのが妥当である。成長率λの算術平均は対数正規分布の平均（Mean），幾何平均はメディアン

$$\sqrt[n]{\lambda_1 \cdots \lambda_n} = \exp \frac{\ln \lambda_1 + \cdots + \ln \lambda_n}{n} = e^\mu \tag{1.31}$$

である。両者の優劣を論じるよりも，全体の確率分布を把握することが重要である。また (α, β) = (4, 0), (3.732, 0.268), (3.7, 0.3), および (2, 2) などの数値例を検討することによって理解を深めることができる。

第2章 具体的な計算事例

赤嶺（2010）では分かりやすさを優先して対話形式としたため長くなりすぎ，いくつかの事項を割愛せざるを得なかった。それらは計算事例が中心で，専門的かつ別解法となるものであるが，これらを赤嶺（2010）と比較検討することによって理解が深まると思われる。なお，この章で検討する確率分布はベイズ統計の普及とともに重要性が増してきているように思う。

線型代数の応用

昔の教科書では最初に行列式（determinant）の定義

$$\sum \text{sgn } \sigma \cdot a_{\sigma(1)1} a_{\sigma(2)2} \cdots a_{\sigma(n)n} \tag{2.1}$$

が載っていて，ほとんど理解不能であった。最近

育的配慮がなされた教科書が出ている（梶原，2010など）。筆者は行列を高校で教わらなかった最後の卒業生だったが，最近また高校で教えなくなった（京極，2011）。大学入試で難しい問題が出るためらしい。入試問題の解法ではケーリー・ハミルトンの定理がよく使われる。この定理の証明は線型代数の教科書を読んでも理解しにくい

が，笠原（1982）に余因子行列を用いた簡明な証明が載っている。安藤（2012）によると，高校では生徒よりも教師の方が行列嫌いらしい。

線型代数はイギリスのケーリーと，ドイツのグラスマンが独自に開発したが，当時はほとんど注目されなかった。1920年代後半に量子力学で使用され，大学の必須科目となった。固有（eigen）値という名称も物理学者であるディラックの命名である。統計学では多変量解析で使用されるが，ここでは例として主成分分析を解説する。

赤嶺（2010）では主軸回帰の直線を座標変換で求めたが，通常は以下に示すように分散行列の固有値を用いる。分散行列（を定数倍したもの）の固有値の定義は

$$\begin{pmatrix} S_{xx} & S_{xy} \\ S_{xy} & S_{yy} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = \lambda_1 \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \tag{2.2}$$

である。これより第1行は

$$S_{xx}x + S_{xy}y = \lambda_1 x \tag{2.3}$$

となるから，主軸の傾きは

$$\frac{y}{x} = \frac{\lambda_1 - S_{xx}}{S_{xy}} \tag{2.4}$$

で与えられる。または第2行

$$S_{xy}x + S_{yy}y = \lambda_1 y \tag{2.5}$$

を解いて、

$$\frac{y}{x} = \frac{S_{xy}}{\lambda_1 - S_{yy}} \quad (2.6)$$

を得るが、これも同じ解を与える。(2.2) 式における固有方程式は、

$$\lambda^2 - (S_{xx} + S_{yy})\lambda + S_{xx}S_{yy} - S_{xy}^2 = 0 \quad (2.7)$$

となるから、

$$\lambda_1 = \frac{S_{xx} + S_{yy} + \sqrt{(S_{yy} - S_{xx})^2 + 4S_{xy}^2}}{2} \quad (2.8)$$

を得る。これを (2.4) 式に代入すれば主軸の傾き b_1 を得る。この方法なら根号の前の符号を間違えない。しかし分散行列や固有値についての知識が必要である。なお主成分分析の統計パッケージでは固有値や固有ベクトルを数値計算で求めている。

補足事項

赤嶺 (2010) にはいくつかミスがある。まず「ヘッセ行列 (ヘシアン)」と書いたのは誤りではないが (p.26), ヘシアンは行列式 (determinant) に使うことが多いため, 「ヘッセ行列 (Hessian matrix)」のように修正したほうがよい。また関数方程式 (p.132)

$$f(x)f(y) = f(\sqrt{x^2 + y^2})f(0) \quad (2.9)$$

はガウスではなくて、記号論理学で有名なブールのアイデアである (安藤, 1995)。なおベルヌイ方程式の解法はライプニッツによると書いたが (p.101), この出典は Thieme (2003) である。ヤコブ・ベルヌイが問題として提示し、ライプニッツとヨハン・ベルヌイが解答を与えたとのことである (森, 1973; Hairer and Wanner, 1996a)。

また平方根について

$$\sqrt{-a} = \sqrt{-1 \times a} = \sqrt{-1}\sqrt{a} = i\sqrt{a} \quad (2.10)$$

および

$$\sqrt{-a} = \sqrt{\frac{a}{-1}} = \frac{\sqrt{a}}{\sqrt{-1}} = \frac{\sqrt{a}}{i} = -i\sqrt{a} \quad (2.11)$$

という2通りの変形を記述した (p.141)。これは2次方程式 $x^2 + a = 0$ の解には2つの平方根 $x = \pm\sqrt{a}i$ が存在し、区別が難しいためである。しかし根号には次のような規約がある。

- 1) $z > 0$ のとき, z の平方根の正の方を $\sqrt{z}$ で表す。
- 2) $z < 0$ のとき, $z = -a$ とおくと, $\sqrt{-a} = \sqrt{a}i$ つまり $\sqrt{z} = \sqrt{-z}i$ と表す

この規約に従うと $b < 0$, $c < 0$ のとき

$$\sqrt{bc} \neq \sqrt{b}\sqrt{c} \quad (2.12)$$

であり, $b < 0$, $c > 0$ のとき

$$\sqrt{\frac{c}{b}} \neq \frac{\sqrt{c}}{\sqrt{b}} \quad (2.13)$$

となる。したがって (2.10) 式が正しく, (2.11) 式は誤りである。

ここで複素数 $z = a + bi$ の平方根を上記の規約に合うように考える。

$$\sqrt{a + bi} = x + yi \quad (2.14)$$

とにおいて両辺を2乗すると、

$$a = x^2 - y^2, \quad b = 2xy \quad (2.15)$$

という連立方程式を得る。これを解いて, $b = 0$ のときに上記の規約に合うようにすると、

3) $b \geq 0$ のとき, $\sqrt{z} = p + qi$ で表す。

4) $b < 0$ のとき, $\sqrt{z} = \pm(p - qi)$ で表す (+ と - のどちらでもよい)。

となる。ここで

$$p = \sqrt{\frac{\sqrt{a^2 + b^2} + a}{2}}, \quad q = \sqrt{\frac{\sqrt{a^2 + b^2} - a}{2}} \quad (2.16)$$

である (石谷, 1973)。この規約は複素平面上において極形式で考えると分かりやすい。 $\sqrt{z}$ が第1象限にあるときだけ $b = 0$ としても根号の規約と合致し, それ以外の象限では上手くいかない。

複素数を水産資源学で用いることはほとんどない。しかし電磁気学や量子力学では不可欠であるし、フーリエ級数やラプラス変換は非常に重要な手法である。また複素関数を使うと、素数定理を高校数学のレベルで証明できる (吉田, 2011)。なお素数定理は証明が難解なことである有名な定理で、

$$\lim_{x \rightarrow \infty} \frac{\pi(x) \ln x}{x} = 1$$

と表される (ここで $\pi(x)$ は x 以下の素数の個数)。

変数変換

中西ら (2003) に紹介されているリスク計算の公式を検討する。ダイオキシン類の体内濃度 (対数値) を x とする。このとき全人口における体内濃度の分布は正規分布, 感受性も正規分布で表せるので, リスク (確率) は、

$$P = \int_{-\infty}^{\infty} f(x)G(x)dx \quad (2.17)$$

と定義される。ここで

$$f(x) = N(\mu_1, \sigma_1^2)$$

$$G(x) = \int_{-\infty}^x g(y) dy$$

$$g(y) = N(\mu_2, \sigma_2^2)$$

である (N は正規分布, $\mu_1 < \mu_2$)。このとき公式

$$P = \Phi \left(\frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}} \right) \quad (2.18)$$

が成立するが (Φ は累積標準正規分布), 以下にこの証明を考える。上式を具体的に書くと,

$$P = \int_{-\infty}^{\infty} f(x) \left(\int_{-\infty}^x g(y) dy \right) dx \quad (2.19)$$

となる。これは二重積分で, 積分領域は $y \leq x$ である。つまり

$$P = \iint_D f(x) g(y) dx dy \quad (2.20)$$

である ($D: y \leq x$)。そこで変数変換

$$s = y - x \leq 0, \quad t = y + x \quad (2.21)$$

を考えると, 積分領域は「 $-\infty \leq s \leq 0, -\infty \leq t \leq \infty$ 」となるから簡単に積分できる。平均と分散の変換公式は

$$E(ax + by) = aE(x) + bE(y) \quad (2.22)$$

$$V(ax + by) = a^2 V(x) + b^2 V(y) \quad (2.23)$$

であるから,

$$s \approx N(\mu_2 - \mu_1, \sigma_1^2 + \sigma_2^2) \quad (2.24)$$

$$t \approx N(\mu_2 + \mu_1, \sigma_1^2 + \sigma_2^2) \quad (2.25)$$

となる。具体的には

$$\frac{s + \mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}} = \frac{y - \mu_2}{\sigma_2} - \frac{x - \mu_1}{\sigma_1} \quad (2.26)$$

$$\frac{t - \mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}} = \frac{y - \mu_2}{\sigma_2} + \frac{x - \mu_1}{\sigma_1} \quad (2.27)$$

と変数変換すればよい。そうすれば, $f(x)g(y) \approx \phi(s)\psi(t)$ を得る。ここで

$$\int_{-\infty}^{\infty} \psi(t) dt = 1 \quad (2.28)$$

だから, 残りの $\phi(s)$ を $s = -\infty \sim 0$ で積分すればよい。したがって

$$\int_{-\infty}^0 \phi(s) ds = \int_{-\infty}^m \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{1}{2}z^2\right) dz,$$

$$m = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}} \quad (2.29)$$

を得る。これが公式 (2.18) である。

このように一度に変換すると分かりにくいかもしれ

ないので, 別証明を考える。まず最初に

$$X = \frac{x - \mu_1}{\sigma_1}, \quad Y = \frac{y - \mu_2}{\sigma_2} \quad (2.30)$$

と変換すると, 直線 $y=x$ は直線

$$\sigma_2 Y + \mu_2 = \sigma_1 X + \mu_1 \quad (2.31)$$

に移る。また確率分布は2次元標準正規分布

$$P(X, Y) = \frac{1}{2\pi} \exp\left[-\frac{1}{2}(X^2 + Y^2)\right] \quad (2.32)$$

になる。これは原点に対して同心円となっているから, 先の直線と直交する直線 $Y=aX$ とその交点を求めればよい。ラグランジュの未定乗数法を適用すれば簡単である。直線 (2.31) 式上で $Z^2 = X^2 + Y^2$ の最小値を求めればよい。

$$Z^2 = X^2 + Y^2 + \lambda(\sigma_2 Y + \mu_2 - \sigma_1 X - \mu_1) \quad (2.33)$$

において,

$$\frac{\partial Z^2}{\partial X} = 2X - \lambda\sigma_1 = 0 \quad \text{より} \quad X = \frac{\lambda\sigma_1}{2} \quad (2.34)$$

$$\frac{\partial Z^2}{\partial Y} = 2Y + \lambda\sigma_2 = 0 \quad \text{より} \quad Y = -\frac{\lambda\sigma_2}{2} \quad (2.35)$$

となるから, (2.31) 式に代入して,

$$\lambda = \frac{2(\mu_2 - \mu_1)}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2} \quad (2.36)$$

を得る。したがって

$$X = \frac{\sigma_1(\mu_2 - \mu_1)}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}, \quad Y = -\frac{\sigma_2(\mu_2 - \mu_1)}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2} \quad (2.37)$$

となる。これより

$$Z^2 = X^2 + Y^2 = \frac{(\mu_2 - \mu_1)^2}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2} \quad (2.38)$$

となるから,

$$Z = \frac{\mu_1 - \mu_2}{\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}} < 0 \quad (2.39)$$

を得る。これが求める交点の座標, つまり m の値である。

ガンマ関数

階乗を一般化したガンマ関数 $\Gamma(s)$ について多くの数学的に重要な事項が発生するのは, 驚くべきことである。ガンマ関数だけで1冊の本が書けるが, 逆にガンマ関数を素材として微分積分学の基礎を学ぶことができる (Artin, 1931)。ガンマ分布について知っておくことは無駄ではない。

ここでガンマ関数を歴史に沿って眺めてみる。オイラーは最初に x と n を正の整数として, 等式

$$(x-1)! = \frac{1 \cdot 2 \cdots (n-1)n^1}{x(x+1)(x+2) \cdots (x+n-1)} \\ \times \left[\frac{n}{n} \frac{n+1}{n} \cdots \frac{n+x-1}{n} \right] \quad (2.40)$$

から

$$(x-1)! = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{(n-1)!n^x}{x(x+1)(x+2) \cdots (x+n-1)} \quad (2.41)$$

を導いた。右辺は x が整数でなくても成立する。この式からオイラーは

$$(x-1)! = \frac{1}{x} \prod_{n=1}^{\infty} \left(1 + \frac{1}{n} \right)^x \left(1 + \frac{x}{n} \right)^{-1} \quad (2.42)$$

という無限積を導いている（一松, 1972）。実際オイラーは1729年の手紙に

$$x! = \frac{1 \cdot 2^x}{1+x} \times \frac{2^{1-x} \cdot 3^x}{2+x} \times \frac{3^{1-x} \cdot 4^x}{3+x} \times \frac{4^{1-x} \cdot 5^x}{4+x} \times \cdots \quad (2.43)$$

と書き、この無限積より

$$\frac{1}{2}! = \frac{1 \cdot \sqrt{2}}{3/2} \times \frac{\sqrt{2} \cdot \sqrt{3}}{5/2} \times \frac{\sqrt{3} \cdot \sqrt{4}}{7/2} \times \frac{\sqrt{4} \cdot \sqrt{5}}{9/2} \times \cdots \\ = \sqrt{\frac{2 \cdot 4}{3 \cdot 3} \times \frac{4 \cdot 6}{5 \cdot 5} \times \frac{6 \cdot 8}{7 \cdot 7} \times \frac{8 \cdot 10}{9 \cdot 9} \times \cdots} \\ = \sqrt{\frac{\pi}{4}} = \frac{\sqrt{\pi}}{2} \quad (2.44)$$

を求めている（Dunhum, 2005）。ここでウォリスの公式

$$\frac{2 \cdot 2}{1 \cdot 3} \times \frac{4 \cdot 4}{3 \cdot 5} \times \frac{6 \cdot 6}{5 \cdot 7} \times \frac{8 \cdot 8}{7 \cdot 9} \times \cdots = \frac{\pi}{2} \quad (2.45)$$

または

$$\frac{2 \cdot 4}{3 \cdot 3} \times \frac{4 \cdot 6}{5 \cdot 5} \times \frac{6 \cdot 8}{7 \cdot 7} \times \cdots = \frac{\pi}{4} \quad (2.46)$$

を用いた。

結果に π が現れたので、オイラーは「何か丸い曲線の面積と関係している」と考え、1730年代の初頭に

$$n! = \int_0^1 (-\ln x)^n dx \quad (2.47)$$

を得た。これを置換すると、

$$n! = \int_0^{\infty} t^n e^{-t} dt \quad (2.48)$$

を得る。ルジャンドルがガンマ関数を

$$\Gamma(s) = \int_0^{\infty} t^{s-1} e^{-t} dt \quad (2.49)$$

と定義したが、この式はオイラー自身も導いている。

一方、ガウスはオイラーに従ってガンマ関数を

$$\Gamma(s) = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{n! n^s}{s(s+1) \cdots (s+n)} \quad (2.50)$$

と定義した。これはルジャンドルの定義式に指数関数の定義式

$$e^t = \lim_{n \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{t}{n} \right)^n \quad (2.51)$$

を代入して、

$$\Gamma(s) \approx \int_0^n t^{s-1} \left(1 - \frac{t}{n} \right)^n dt = n^s \int_0^1 x^{s-1} (1-x)^n dx \\ = n^s B(s, n+1) = \frac{n^s \Gamma(s) \Gamma(n+1)}{\Gamma(n+s+1)} \quad (2.52)$$

と変形しても得られる（笠原, 1973）。ガウスはガンマ関数を複素数にまで拡張している。さらに

$$\frac{1}{\Gamma(s)} = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{s(s+1) \cdots (s+n)}{n! n^s} \\ = \lim_{n \rightarrow \infty} s n^{-s} \prod_{k=1}^n \left(1 + \frac{s}{k} \right) \quad (2.53)$$

と変形すると、最後の無限積が収束しないので、

$$n^{-s} = e^{-s \ln n} \quad (2.54)$$

およびオイラー定数

$$\ln n \approx 1 + \frac{1}{2} + \cdots + \frac{1}{n} - \gamma \quad (2.55)$$

を使って、

$$\frac{1}{\Gamma(s)} = s e^{\gamma s} \prod_{n=1}^{\infty} \left(1 + \frac{s}{n} \right) e^{-s/n} \quad (2.56)$$

とすれば収束する。これが有名なワイエルシュトラスの公式である（一松, 1963; Havil, 2003; 中田, 2005）。

どうしてこのような複雑な定義式が提唱されているのかというと、ガンマ関数には重要な公式がいくつかあり、これらの定義式を使うとそれらが自然に証明できるからで、より自然な定義式とみなせるのである（一松, 1990）。

カイ二乗分布

物理学者のファインマンは常に別証明を求めた（吉田, 2000）。赤嶺（2010）の第11章では小針（1973）に従ってカイ二乗分布と F 分布を導出したが、どうしてガンマ関数やベータ関数が出てくるのか分かりにくかった。小針（1973）では「数学的帰納法」と「たたみ込み」を用いているが、他にラプラス変換（積率母関数）を用いる方法もある（梶原, 1988）。ここでは宇喜多（1982）が2次元で解説した方法に従って、 n 次元の球（超球）の表面積を用いる方法を解説する。志村（2010）は「4次元の球体」

$$x_1^2 + x_2^2 + x_3^2 + x_4^2 \leq r^2 \quad (2.57)$$

の体積の公式を学生に予想させるよう書いている。大学1年生向けの重積分の問題である。まず2次元の円の面積を求めてみる。「高校数学」のやり方でやってみると、

$$V(2) = S = 2 \int_0^r 2y dx = 4 \int_0^r \sqrt{r^2 - x^2} dx \quad (2.58)$$

ここで「 $x=r\sin\theta$ 」とおくと、「 $dx=r\cos\theta d\theta$ 」だから、

$$S = 4r^2 \int_0^{\pi/2} \cos^2\theta d\theta = 4r^2 \frac{1}{2} \frac{\pi}{2} = \pi r^2 \quad (2.59)$$

となる。ここで「ウォリス積分」の公式を用いた。同様に球の体積は、

$$\begin{aligned} V(3) &= 2 \int_0^r \pi y^2 dx = 2\pi \int_0^r (r^2 - x^2) dx \\ &= 2\pi r^3 \int_0^{\pi/2} \cos^3\theta d\theta = \frac{4}{3} \pi r^3 \end{aligned} \quad (2.60)$$

となる。この計算を繰り返すと、

$$\begin{aligned} V(4) &= 2 \int_0^r \frac{4}{3} \pi y^3 dx = \frac{8\pi}{3} \int_0^r (r^2 - x^2)^{3/2} dx \\ &= \frac{8\pi r^4}{3} \int_0^{\pi/2} \cos^4\theta d\theta = \frac{1}{2} \pi^2 r^4 \end{aligned} \quad (2.61)$$

を得る。なお1次元で同様の計算をすると、

$$V(1) = 2 \int_0^r (r^2 - x^2)^0 dx = 2 \int_0^r 1 dx = 2r \quad (2.62)$$

となる。これは直径の長さである。

以上より、漸化式

$$V(n) = 2rw(n) V(n-1) \quad (2.63)$$

を得る。ここで

$$w(n) = \int_0^{\pi/2} \cos^n\theta d\theta \quad (2.64)$$

はウォリス積分である。これより

$$V(n) = 2^n r^n w(n) w(n-1) \cdots w(1) V(0), \quad V(0) = 1 \quad (2.65)$$

となる。ウォリス積分は、

$$\begin{aligned} 2w(k) &= B\left(\frac{k+1}{2}, \frac{1}{2}\right) = \frac{\Gamma\left(\frac{k+1}{2}\right)\Gamma\left(\frac{1}{2}\right)}{\Gamma\left(\frac{k}{2}+1\right)} \\ &= \sqrt{\pi} \frac{\Gamma\left(\frac{k+1}{2}\right)}{\Gamma\left(\frac{k}{2}+1\right)} \end{aligned} \quad (2.66)$$

と表せるので (赤嶺, 2010),

$$\begin{aligned} V(n) &= (\sqrt{\pi})^n \frac{\Gamma\left(\frac{n+1}{2}\right)}{\Gamma\left(\frac{n+2}{2}\right)} \frac{\Gamma\left(\frac{n}{2}\right)}{\Gamma\left(\frac{n+1}{2}\right)} \cdots \frac{\Gamma(1)}{\Gamma\left(\frac{3}{2}\right)} r^n \\ &= \frac{(\sqrt{\pi})^n}{\Gamma\left(\frac{n}{2}+1\right)} r^n = \frac{2(\sqrt{\pi})^n}{n\Gamma\left(\frac{n}{2}\right)} r^n \end{aligned} \quad (2.67)$$

を得る。これが求めていた n 次元の球の体積である。ここで両辺を微分すると

$$\Delta V = \frac{2(\sqrt{\pi})^n}{\Gamma\left(\frac{n}{2}\right)} r^{n-1} \Delta r \quad (2.68)$$

を得る。これが球の表面積である。

さて自由度 n のカイ二乗分布の定義は、

$$Y = X_1^2 + X_2^2 + \cdots + X_n^2 \quad (2.69)$$

である。このままでは分かりにくいので、

$$y = r^2 = x_1^2 + x_2^2 + \cdots + x_n^2 \quad (2.70)$$

とおくと、これは半径 r の球の方程式である。したがって球の表面積を用いれば、カイ二乗分布が簡単に導ける。ここで確率変数の変換式を

$$P(y) \Delta y = P(x_1, x_2, \dots, x_n) \Delta V \quad (2.71)$$

と表わしてみる。標準正規分布の確率密度は

$$P(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-x^2/2} \quad (2.72)$$

なので、

$$\begin{aligned} P(x_1, x_2, \dots, x_n) &= P(x_1)P(x_2) \cdots P(x_n) \\ &= \frac{1}{(\sqrt{2\pi})^n} e^{-y/2} \end{aligned} \quad (2.73)$$

となる。

一方、 $y=r^2$ より、 $dy=2rdr$ なので、

$$\frac{\Delta V}{\Delta y} = \frac{\Delta V}{\Delta r} \frac{\Delta r}{\Delta y} = \frac{2(\sqrt{\pi})^n}{\Gamma\left(\frac{n}{2}\right)} r^{n-1} \frac{1}{2r} \quad (2.74)$$

となる。 $n=1$ のとき $\Delta V/\Delta r=2$ であるが、これは2価関数に対応している。以上より、

$$\begin{aligned}
 P(y) &= P \frac{\Delta V}{\Delta y} = \frac{e^{-y/2} (\sqrt{\pi})^n}{(\sqrt{2\pi})^n \Gamma\left(\frac{n}{2}\right)} r^{n-2} \\
 &= \frac{1}{2^{n/2} \Gamma\left(\frac{n}{2}\right)} y^{n/2-1} e^{-y/2} \quad (2.75)
 \end{aligned}$$

を得るが、これがカイ二乗分布の確率密度関数である。

ガンマ分布とベータ分布

次に分布の導出について考える。ここではガンマ分布とベータ分布に関する有名な定理を用いる。ガンマ関数の「ラプラス変換」型の定義は

$$\Gamma(s) = \int_0^\infty t^{s-1} e^{-t} dt \quad (2.76)$$

である。これを置換積分すると、

$$\int_0^\infty t^{s-1} e^{-\alpha t} dt = \frac{\Gamma(s)}{\alpha^s} \quad (2.77)$$

となる。これよりガンマ分布を

$$Ga(\alpha, \beta) = \frac{\alpha^\beta}{\Gamma(\beta)} x^{\beta-1} e^{-\alpha x} = \frac{\alpha^\beta}{\Gamma(\beta)} g(x, \beta) \quad (2.78)$$

と定義する(本によってパラメータの表現が異なる)。これよりカイ二乗分布は

$$\chi_n^2(x) = Ga\left(\frac{1}{2}, \frac{n}{2}\right) = \frac{1}{2^{n/2} \Gamma\left(\frac{n}{2}\right)} x^{n/2-1} e^{-x/2} \quad (2.79)$$

と表せる。またベータ分布を

$$\begin{aligned}
 Be(p, q) &= \frac{1}{B(p, q)} x^{p-1} (1-x)^{q-1} \\
 &= \frac{1}{B(p, q)} b(x, p, q) \quad (2.80)
 \end{aligned}$$

と定義する。このとき次の定理が成立する。

[定理] X と Y が独立で、それぞれ $Ga(a, p)$ と $Ga(a, q)$ に従うとき、

(a) $X+Y$ は $Ga(a, p+q)$ に従う。

(b) $\frac{Y}{X+Y}$ は $Be(q, p)$ に従う。

この (b) から F 分布が導ける。Hairer and Wanner (1996b) を参考にすると、

$$\begin{aligned}
 I &= g(x, p) g(y, q) = x^{p-1} e^{-\alpha x} y^{q-1} e^{-\alpha y} \\
 &= x^{p-1} y^{q-1} e^{-\alpha(x+y)} \quad (2.81)
 \end{aligned}$$

となるから、最初に変数変換

$$s = x+y, \quad v = y \quad (2.82)$$

を用いてみる。これは「正方形を同じ面積の平行四辺形に写す」写像なので、ヤコビアンは1である。した

がって

$$I = (s-v)^{p-1} v^{q-1} e^{-\alpha s} \quad (2.83)$$

となる。ここでさらに

$$v = st \quad (2.84)$$

と変換する。 $dv = s dt$ に注意すると、

$$\begin{aligned}
 I &= s^{p-1} (1-t)^{p-1} s^{q-1} t^{q-1} e^{-\alpha s} s \\
 &= s^{p+q-1} e^{-\alpha s} (1-t)^{p-1} t^{q-1} \\
 &= g(s, p+q) b(t, q, p) \quad (2.85)
 \end{aligned}$$

を得る。結局、分かりやすい変数変換は

$$s = x+y, \quad t = \frac{y}{x+y} \quad (2.86)$$

である。これは

$$y = -x + s, \quad \frac{x}{y} = \frac{1}{t} - 1 \quad (2.87)$$

という2種類の直線群である。以上より、

$$x = s - st = s(1-t), \quad y = st \quad (2.88)$$

となるから、ヤコビアンは

$$J = \det \begin{pmatrix} 1-t & -s \\ t & s \end{pmatrix} = (1-t)s + ts = s > 0 \quad (2.89)$$

である。これからガンマ関数とベータ関数の関係式

$$\Gamma(p) \Gamma(q) = \Gamma(p+q) B(p, q) \quad (2.90)$$

が簡単に証明できる。ガンマ分布とベータ分布に関する先の定理もまったく同様である。

一方、

$$T = \frac{Y}{X+Y} = \frac{1}{\frac{X}{Y} + 1} = \frac{1}{\frac{m}{n} U + 1} \quad (2.91)$$

とおくと、

$$U = \frac{X/m}{Y/n} = \frac{n}{m} \frac{X}{Y} = \frac{n}{m} \left(\frac{1}{T} - 1 \right) \quad (2.92)$$

となる。これより

$$dU = -\frac{n}{m} \frac{1}{T^2} dT \quad (2.93)$$

となるが、符号がマイナスなのは積分の方向が逆になるためである。

$$\frac{\Delta T}{\Delta U} = \left| \frac{dT}{dU} \right| = \frac{m}{n} T^2 \quad (2.94)$$

とすれば、 F 分布の確率密度関数

$$\begin{aligned}
 f(u) &= P \frac{\Delta T}{\Delta U} = \frac{1}{B\left(\frac{m}{2}, \frac{n}{2}\right)} \left(\frac{1}{1 + \frac{m}{n}u} \right)^{n/2-1} \\
 &\quad \times \left(1 - \frac{1}{1 + \frac{m}{n}u} \right)^{m/2-1} \frac{\frac{m}{n}}{\left(1 + \frac{m}{n}u\right)^2} \\
 &= \frac{1}{B\left(\frac{m}{2}, \frac{n}{2}\right)} \left(\frac{m}{n}\right)^{m/2} \frac{u^{m/2-1}}{\left(1 + \frac{m}{n}u\right)^{(m+n)/2}} \quad (2.95)
 \end{aligned}$$

が得られる。

赤嶺 (2010) の p.164 に書いたように, t 分布の t^2 は $F(1, n)$ に従うから, t 分布の確率密度を $p(t)$, $F(1, n)$ の確率密度を $f(u)$ とおくと, $t^2 = u$ だから, 2 価関数であることに注意して,

$$p(t) = f(u) t = f(t^2) t \quad (2.96)$$

を用いると,

$$\begin{aligned}
 p(t) &= \frac{1}{B\left(\frac{1}{2}, \frac{n}{2}\right)} \left(\frac{1}{n}\right)^{1/2} \frac{t^{-1} t}{\left(1 + \frac{1}{n}t^2\right)^{(1+n)/2}} \\
 &= \frac{1}{\sqrt{n} B\left(\frac{1}{2}, \frac{n}{2}\right)} \left(1 + \frac{t^2}{n}\right)^{-(n+1)/2} \quad (2.97)
 \end{aligned}$$

を得る。

なお F 分布を求めるだけなら,

$$s = \frac{x}{y}, \quad t = x + y \quad (2.98)$$

とおくのがよい。これより

$$x = \frac{st}{1+s}, \quad y = \frac{t}{1+s} \quad (2.99)$$

となるから,

$$J = \det \begin{pmatrix} \frac{t}{(1+s)^2} & \frac{s}{1+s} \\ -\frac{t}{(1+s)^2} & \frac{1}{1+s} \end{pmatrix} = \frac{t}{(1+s)^2} > 0 \quad (2.100)$$

である (一松, 2011)。これを用いると,

$$\begin{aligned}
 I &= g(x, p) g(y, q) = x^{p-1} e^{-\alpha x} y^{q-1} e^{-\alpha y} \\
 &= t^{p+q-1} e^{-\alpha t} \frac{s^{q-1}}{(1+s)^{p+q}} \\
 &= g(t, p+q) h(s, q, p) \quad (2.101)
 \end{aligned}$$

を得る。ここで

$$v = \frac{s}{1+s} \quad (2.102)$$

とおくと,

$$1-v = \frac{1}{1+s}, \quad dv = \frac{ds}{(1+s)^2} \quad (2.103)$$

なので,

$$b(v) = h(s) \frac{ds}{dv} = \frac{s^{q-1}}{(1+s)^{p+q-2}} = v^{q-1} (1-v)^{p-1} \quad (2.104)$$

を得る。 $h(s)$ から F 分布の密度関数 $f(u)$ を求めるには,

$$u = \frac{n}{m} s \quad (2.105)$$

とおけばよい。

ま と め

応用数学に限らず, 何が重要で何が重要でないかを見極めることは重要であり, そのための眼力を養う必要がある。負の二項分布や対数正規分布のような初歩的な事項をしっかりと理解することが肝心である。統計学の基礎は重要であるが, 伝統的統計学における帰無仮説を用いた検定方法, およびベイズ統計学に関係した HDR (Highest Density Region: 最高確率密度区間) と PMP (Probability Matching Prior: 確率一致事前分布) を理解すれば, 後は自然に身につくように思う。

謝 辞

本論をまとめるにあたり協力していただいた (故) 須田真木さんと山越友子さん, また構成等について有益なコメントをいただいた査読者の方々に深謝いたします。

文 献

- 赤嶺達郎, 1988: 抽出法による個体数推定の誤差 (後編). 日水研連絡ニュース (345), 6-11.
- 赤嶺達郎, 2002: 枠どり法と Petersen 法の区間推定における伝統的統計学とベイズ統計学との比較. 水研センター研究報告, 2, 25-34.
- 赤嶺達郎, 2007: 水産資源解析の基礎. 恒星社厚生閣, 東京, 115pp.
- 赤嶺達郎, 2010: 水産資源のデータ解析入門. 恒星社厚生閣, 東京, 178pp.
- Akamine T. and Suda M., 2011: The growth rates

- of population projection matrix models in random environments. *Aqua-Bio Science Monographs*, 4, 95-104.
- 安藤洋美, 1989: 統計学けんか物語. 海鳴社, 東京, 142pp.
- 安藤洋美, 1995: 最小二乗法の歴史. 現代数学社, 京都, 240pp.
- 安藤洋美, 1997: 多変量解析の歴史. 現代数学社, 京都, 208pp.
- 安藤洋美, 2001: 大道を行く高校数学 統計数学編. 現代数学社, 京都, 429pp.
- 安藤洋美, 2012: 異説数学教育史. 現代数学社, 京都, 227pp.
- 安藤洋美, 門脇光也, 1980: ピアソンとフィッシャーの喧嘩物語 (II). BASIC 数学 (現代数学社), 1980年12月号, 32-35.
- 安藤洋美, 門脇光也, 1981: ピアソンとフィッシャーの喧嘩物語 (IV). BASIC 数学 (現代数学社), 1981年3月号, 36-40.
- 安藤洋美, 門脇光也, 2004: 初学者のための統計教室. 現代数学社, 京都, 194pp.
- Artin E., 1931: ガンマ関数入門 (上野健爾訳). 日本評論社, 東京, 126pp.
- Dey D.K. and Rao C.R., 2005: ベイズ統計分析ハンドブック (繁榊算男ら訳). 朝倉書店, 東京, pp.93-118.
- Dunham W., 2005: 微積分名作ギャラリー (一樂重雄ら訳). 日本評論社, 東京, 237pp.
- Geiringer H., 1968: 確率・客観的確率論 (安藤洋美訳). 歴史の中の数学, 平凡社, 東京, pp.114-197.
- Gessen M., 2009: 完全なる証明 100万ドルを拒否した数学者 (青木 薫訳). 文藝春秋, 東京, 375pp.
- Hairer E. and Wanner G., 1996a: 解析教程 上 (かに江幸博訳). シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京, 323pp.
- Hairer E. and Wanner G., 1996b: 解析教程 下 (かに江幸博訳). シュプリンガー・フェアラーク東京, 東京, 339pp.
- Hakoyama H. and Iwasa Y., 2000: Extinction risk of a density-dependent population estimated from a time series of population size. *J. Theor. Biol.*, 204, 337-359.
- Havil J., 2003: オイラーの定数ガンマ γ で旅する数学の世界 (新妻弘ら訳). 共立出版, 東京, 284pp.
- 一松 信, 1963: 解析学序説 下. 裳華房, 東京, 316pp.
- 一松 信, 1972: ガンマ関数. 数学100の発見, 数学セミナー増刊, 日本評論社, pp.84-85.
- 一松 信, 1990: 微分積分学入門第三課. 近代科学社, 東京, 183pp.
- 一松 信, 2011: 多変数の微分積分学. 現代数学社, 京都, 271pp.
- Hoel P.G., 1971: 入門数理統計学 (浅井 晃, 村上正康訳). 培風館, 東京, 404pp.
- 石谷 茂, 1973: ルートの中は虚数でもよいのか. $\forall$ と $\exists$ に泣く, 現代数学社, 京都, pp.124-129.
- 伊藤 清, 2004: 確率論の基礎 (新版). 岩波書店, 東京, 142pp.
- 伊藤清三, 1963: ルベーグ積分入門. 裳華房, 東京, 301pp.
- 巖佐 庸, 1990: 数理生物学入門 生物社会のダイナミックス. HBJ 出版局, 東京, pp.192-205.
- 梶原じょう二, 1988: 新修文系・生物系の数学. 現代数学社, 京都, 268pp.
- 梶原 健, 2010: 基礎からわかる! しっかりわかる!! 線形代数ゼミ. ナツメ社, 東京, 320pp.
- 笠原こう司, 1973: 対話・微分積分学. 現代数学社, 京都, 344pp.
- 笠原こう司, 1982: 微分方程式の基礎. 朝倉書店, 東京, 207pp.
- 小針あき宏, 1973: 確率・統計入門. 岩波書店, 東京, 300pp.
- 小寺平治, 1986: 明解演習 数理統計. 共立出版, 東京, 212pp.
- Kolmogoroff A., 1974: 確率論の基礎概念 (第二版) (根本伸司訳). 東京図書, 東京, 118pp.
- 好田順治, 1984a: 微積分学史 (13) 測度論の展開. BASIC 数学 (現代数学社), 1984年2月号, 93-97.
- 好田順治, 1984b: 微積分学史 (14) ルベック積分論からの発展. BASIC 数学 (現代数学社), 1984年3月号, 88-93.
- 京極一樹, 2011: ちょっとわかればこんなに役に立つ 中学・高校数学のほんとうの使い道. 実業之出版社, 東京, 207pp.
- Laplace P.S., 1812: 確率論 (伊藤清, 樋口順四郎訳). 共立出版, 東京, 442pp.
- Laplace P.S., 1814: 確率の哲学的試論 (内井惣七訳). 岩波書店, 東京, 287pp.
- Link W. A. and Barker R. J., 2010: Bayesian Inference with Ecological Applications. Elsevier, London, pp.111-113.
- 松原 望, 2010: ベイズ統計学概説 フィッシャーからベイズへ. 培風館, 東京, 255pp.

- 蓑谷千風彦, 1985: 回帰分析のはなし. 東京図書, 東京, 325pp.
- 蓑谷千風彦, 1987: 統計学のはなし. 東京図書, 東京, 293pp.
- 蓑谷千風彦, 1988: 推定と検定のはなし. 東京図書, 東京, 292pp.
- 森 真, 2012: 入門 確率解析とルベグ積分. 東京図書, 東京, 235pp.
- 森 毅, 1973: 異説数学者列伝. 蒼樹書房, 東京, pp.83-89.
- 長沼伸一郎, 2011: 物理数学の直感的方法 (普及版) 理工系で学ぶ数学の「難所突破」の特効薬. 講談社, 東京, 300pp.
- 中西準子, 益永茂樹, 松田裕之, 2003: 演習 環境リスクを計算する. 岩波書店, 東京, 230pp.
- 中田英樹, 2005: 社会人と大学生のための高校数学精義. 現代数学社, 京都, 246pp.
- 日本生態学会, 2004: 生態学入門. 東京化学同人, 東京, 273pp.
- 日本水産学会水産教育推進委員会, 2011: 農学・水産学系学生のための数理科学入門. 恒星社厚生閣, 東京, 137pp.
- 西村欣也, 2012: 生態学のための数理的方法 考えながら学ぶ個体群生態学. 文一総合出版, 東京, 261pp.
- 西山陽一, 2011: マルチンゲール理論による統計解析. 近代科学社, 東京, 168pp.
- Reid C., 1982: 数理統計学者ネイマンの生涯 (安藤洋美ら訳). 現代数学社, 京都, 525pp.
- 志賀浩二, 1990: ルベグ積分30講. 朝倉書店, 東京, 243pp.
- 繁桝算男, 1985: ベイズ統計入門. 東京大学出版会, 東京, 225pp.
- 島谷健一郎, 2012: フィールドデータによる統計モデリングとAIC. 近代科学社, 東京, 216pp.
- 志村五郎, 2010: 数学をいかに使うか. 筑摩書房, 東京, 173pp.
- Sober E., 2008: 科学と証拠 統計の哲学入門 (松王政浩訳). 名古屋大学出版会, 名古屋, 244pp.
- 高木貞治, 2010: 数学の自由性. 筑摩書房, 東京, 346pp.
- 竹内 啓, 藤野和建, 1981: 2項分布とポアソン分布. 東京大学出版会, 東京, 262pp.
- 竹内 啓, 大橋靖雄, 1981: 統計的推測 2 標本問題. 数学セミナー増刊, 日本評論社, 東京, 192pp.
- Thieme H.R., 2003: 生物集団の数学 上 (齋藤保久訳). 日本評論社, 東京, 286pp.

- Todhunter L., 1865: 確率論史 (安藤洋美訳). 現代数学社, 京都, 531pp.
- 宇喜多義昌, 1982: 確率関数とそのグラフの応用. BASIC 数学 (現代数学社), 1982年6月号, 58-65.
- 渡部 洋, 1999: ベイズ統計学入門. 福村出版, 東京, 249pp.
- 渡辺 守, 2012: 生態学のレッスン 身近な言葉から学ぶ. 東京大学出版会, 東京, 185pp.
- 占田耕作, 1977: 或る数学者の弁明 完備性問答. 数の直感にはじまる (彌永昌吉監修), 工作舎, 東京, 133-144.
- 吉田信夫, 2011: 複素解析の神秘性 複素数で素数定理を証明しよう!. 現代数学社, 京都, 205pp.
- 吉田 武, 2000: 虚数の情緒 中学生からの全方位独学法. 東海大学出版会, 神奈川, 1001pp.
- 吉村 仁, 2012: なぜ男は女より多く生まれるのか 絶滅回避の進化論. 筑摩書房, 東京, pp.47-70.

付録 統計学と確率論の歴史

筆者は現在、連携大学院である東京海洋大学で集中講義を行っているが、受講生の一人から「ある先生から確率を使うなら測度論を勉強するようにと言われたのですが、良い本があったら教えてください」と質問されたので、とりあえず小針 (1973) を読むように回答した。水産分野において入門的な教科書は出版されているが (日本水産学会水産教育推進委員会, 2011; 西村, 2012), 測度論のような専門分野に踏み込んだ本は皆無のようである。この付録では統計学と確率論の歴史的事項について概略を説明する。確率および積分に関する基礎事項については以下の専門書を推薦する。測度論やルベグ積分については伊藤 (1963) が定評のある教科書であるが、ハードルがかなり高いので、最初に志賀 (1990) を読むのがよい。確率微分方程式についての最近の教科書として西山 (2011) や森 (2012) がある。とりわけ森 (2012) は初心者向けに分かりやすく書かれている。

統計学の歴史

歴史的な事項について概略を述べると、古典的な確率論はラプラスによって纏められた (Todhunter, 1865)。その後、ルジャンドルやガウスによって最小2乗法が発見されたが (安藤, 1995), 天文学における誤差解析が主流であった。近代的な統計学はゴルトンからで、チャールズ・ダーウィンの従兄弟であったため、

ダーウィンから生物データの解析を依頼され、回帰分析や相関、信頼楕円などを開発した。これを引き継いだのがカール・ピアソンである。(蓑谷, 1985; 安藤, 1997)

ピアソンは応用数学の教授であったが、若い頃に「科学の文法」という本を書き、1900年にメンデル則が再発見されると、遺伝学の推進役を担った。しかし数学を生物学に応用するには相当な抵抗があったため、ゴルトンの援助を受け、専門の雑誌「バイオメトリカ」を創刊した。またコンピューターのない当時、多くの優秀な部下を率いて緊急の要であった重要な数表を作成した(蓑谷, 1987)。

ピアソンの弟子の一人であるゴセット(ステューデント)が t 分布を発見したが、この重要性に気づいたのはフィッシャーであった。それまでの大標本を用いる統計学から小標本の統計学に脱皮させたのがフィッシャーであるが、ピアソンの配下に入るのを嫌ったため、両者の関係は次第に悪化していった。カイ二乗適合度検定などで論争したが、数学的な問題についてはフィッシャーの方が正しかった。ピアソンが自由度を間違えたのは、信じられないミスであるが、非常に多忙であったことも一因だろう(安藤, 1989)。

ネイマンはポーランド出身で、若い頃にルベグ積分の新しい定理を発見するなど数学者として一流であった。シェルピンスキーらによってピアソンの所に留学させられたが、一年後パリに移ってボレルやルベグに学んでいる。カール・ピアソンの息子のエゴン・ピアソンはゴセットやフィッシャーの影響を受けたが、数学的能力に優れたピアソンに共同研究を依頼し、この共同研究によってネイマン・ピアソン流の検定法などが生まれた。信頼区間などはもともとフィッシャーのアイデアだったらしいが、実験計画法の解釈などでネイマンと対立したフィッシャーがfiducial 確率を唱えたため、帰無仮説を用いる方法はネイマン・ピアソン流と呼ばれている(Reid, 1982; 蓑谷, 1988; 竹内・大橋, 1981)。なおfiducial 確率とはパラメータ値の「確からしさ」の分布としての「確率」のことで、パラメータがfiducial 区間の中に存在するという命題の信頼性を表す尺度とされている(蓑谷, 1988; 竹内・大橋, 1981)。

カール・ピアソンは応用数学の教授であったから、数学的な技量は一流であったが、基礎的な部分にやや弱かったようである。ネイマンの論文について議論した際、ネイマンの方が正しかったが、「それはポーランドでは真理かもしれないが、ネイマン君、ここでは真理じゃない!」と怒って部屋から出て行ったという逸話がある(Reid, 1982)。一方、フィッシャーは幾何学的

な直感力に優れ、 n 次元の球帯の面積なども計算している(安藤・門脇, 1981; 安藤, 1997)。なおゴセットは「3次元以上(の数学)には精通していません」とカール・ピアソン宛の手紙に書いている(安藤・門脇, 1980)。

フィッシャーがネオ・ベイズの筆頭であるサヴェジに「統計屋というのはあまり数学を振り回してはいかん。数学にあまり通じてはいかん」と言ったという話(竹内・大橋, 1981)は、ネイマンへの当てこすりと思われる。なおフィッシャーは集団遺伝学やゲーム理論における功績も大きい。日本生態学会(2004)でも重要な数理生態学者として紹介されており、またその中のハミルトンはフィッシャーを学問上の師と仰いでいる。

ネイマンがロンドンに派遣される際の逸話は、当時の状況がうかがえて興味深いので、ネイマンの言葉を以下に引用する。「変り者の二人、シェルピンスキーとバッサリーク、がある日やって来て、私に言いました。「知っているかね。この統計的研究集団がやっていることすべてを。そしてポーランドではそれが良いのか悪いのか誰も分からないのだよ。それで私たちはカール・ピアソンと一緒に研究するために一年間ロンドンへ君を派遣しようと思う。というのは、ピアソンは世界最大の統計学者だからね。それでもしピアソンの雑誌、つまり「バイオメトリカ」だね、に君の何か論文を彼が発表してくれたなら、君は合格したと、私は思うことにしよう。もしそうならなかったら、帰ってこなくてよい」」(Reid, 1982)。

確率論の歴史

一般に確率論は数学なので難しく、統計学は応用数学なので易しいという印象がある。確率論の歴史についてLaplace(1812)の付録に伊藤清が、伊藤(2004)の付録に池田信行が概略を述べている。最初到大数の弱法則をヤコブ・ベルヌイが示した。中心極限定理の原型は1718年にド・モアブルが導き、1812年にラプラスが一般化した。ただしカール・ピアソンはド・モアブルが $p \neq 0$ の場合も証明抜きで導いていることを指摘した(蓑谷, 1987)。古典的確率論はLaplace(1812)で完成したが、この本は特性関数を用いているので難解である(冗長な部分もあるが、結論はすべて正しい)。なおベイズの定理を一般化したのもラプラスであるが、Laplace(1814)では「太陽が明日もまた昇ることについては1に対する1826214の賭率を与えることができる」など書いている。

1902年にルベグ積分が提示され、1909年にボレル

が大数の強法則を証明した。連続時間の確率過程はシュバリエやアインシュタインが提示し、1923年にウィナーが定式化した。1933年に「コルモゴロフの公理」が提示されて確率論が確立された (Kolmogoroff, 1974)。これに対しミーゼスは「確率の頻度説」を提示している。ただし吉田 (1977) によるとミーゼスの定義は国語辞典における言葉の説明のようなもので、中心極限定理のような法則を導くことができないが、コルモゴロフの公理からはすべての法則を導くことができる。コルモゴロフの公理は排反事象 A_1 と A_2 について、

$$P(A_1 \cup A_2) = P(A_1) + P(A_2)$$

という確率に要求されるべき基本性質が、

$$P\left(\bigcup_{i=1}^{\infty} A_i\right) = \sum_{i=1}^{\infty} P(A_i)$$

となるように理想化したものである。このような数学モデルがルベーク測度として既に関拓されていたので、コルモゴロフはこれを矛盾のない公理として提出できたわけである。

大数の弱法則は

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P\left(\left|\frac{r}{n} - p\right| = 0\right) = 1 \quad (\text{A.1})$$

と表され、強法則は

$$P\left(\lim_{n \rightarrow \infty} \left|\frac{r}{n} - p\right| = 0\right) = 1 \quad (\text{A.2})$$

と表される (Geiringer, 1968)。前者は「確率収束」なので、若干の例外 (範囲から「はみだす」もの) があってもよいが、後者ではそのような例外は存在しない。極限操作 $\lim$ の位置を確率 P の外から中に入れるのに200年近くかかったわけである。

コルモゴロフの公理を高木 (2010) が絶賛しているが、測度論に立脚しているので本当の価値を理解するのは難しい。大数の強法則はこれも測度論に立脚しているので証明は難しい。ルベークはボレルの弟子であったが、二人の仲は良くなかった。ルベーク積分の先取権のせいらしい (Reid, 1982; 好田, 1984a,b)。なおコルモゴロフや当時のソ連の状況については Gessen (2009) が詳しい。

(和文要旨)

負の二項分布と対数二項分布について経済学や生態学の分野で数学的な誤りが散見される。これらの修正、最高確率密度区間および確率一致事前分布を用いたベイズ統計手法について解説する。また枠どり法、超幾何分布、ランダム・ウォークモデル、ガンマ関数とベータ関数、カイ二乗分布について解説する。これらは水産科学における統計学手法のバックグラウンドであり、これらの知識は水産資源研究において役に立つ。

Reports on Advancing Comparative Ecological Studies of Early Life History and Recruitment Strategy of Bluefin Tunas and Related Species, and Effects of Environmental Changes on Fluctuations of Oceanic Top Predators

-Proceedings of the Fisheries Research Agency (FRA) and Climate Impacts on Oceanic Top Predators (CLIOTOP) joint workshop, 20-23 September 2011-

Preface

Climate Impacts on Oceanic Top Predators (CLIOTOP) was initiated in 2004 as a ten-year research program implemented under the international Global Ocean Ecosystem Dynamics (GLOBEC) initiative. The aims of CLIOTOP have been to facilitate international cooperation for research activities on oceanic top predators, and to accumulate and increase biological and oceanographic knowledge in order to better understand oceanic ecosystems. CLIOTOP is composed of five interacting working groups that are concerned with early life history (WG1), physiology, behavior and distribution (WG2), trophic pathways in open ocean ecosystems (WG3), synthesis and modeling (WG4) and socio-economic aspects and management strategies (WG5). CLIOTOP is focused on the identification and modeling of processes involving oceanic top predators and oceanic ecosystems, as well as comparisons of these processes in different regions, oceans and species at a global scale.

After 2009, the international program entered its second five-year cycle, CLIOTOP is acting under an implementation of Integrated Marine Biogeochemistry and Ecology (IMBER). During the second phase, CLIOTOP will place increased emphasis on developing international oceanic ecosystem-level management methods for a variety of anthropogenic and natural forcing scenarios in oceanic ecosystems in the 21st century.

In September 2011, the joint FRA-CLIOTOP workshop, "Advancing comparative ecological studies of early life history and recruitment strategy of bluefin tunas and the related species, and effects of environmental changes on the fluctuations of oceanic top predators" was held at National Research Institute of Far Seas Fisheries (NRISFS) at Shimizu in Shizuoka, Japan. Thirty-nine scientists from four countries including Japan, USA, Australia and Spain participated in the workshop and 22 oral presentations were given. The presentation papers were collated and are published here as the Proceedings of the joint FRA-CLIOTOP workshop. We would like to express our sincere gratitude to all participants, staff, and colleagues for their assistance with making the workshop a success.

The Executive Committee of the Joint FRA-CLIOTOP Workshop
National Research Institute of Far Seas Fisheries
Fisheries Research Agency

CONTENTS

Preface

Contents

Background

Objectives of the workshop

Program

Proceedings of the workshop presentations

1. Interannual larval growth and condition variability of bluefin (*Thunnus thynnus*) consequent with climate-induced environmental changes off the Balearic Sea.
A. García, D. Cortés, J. Quintanilla, F. Alemany, L. Quintanilla, J.M. Rodríguez, T. Rámirez ... 71
2. Early life history of Atlantic reef and pelagic fishes: using otolith microstructure to reveal ecological and oceanographic processes
S. Sponaugle 75
3. Transport, distribution and growth of larval patches of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) in the northwestern Pacific Ocean
K. Satoh, M. Masujima, Y. Tanaka, M. Okazaki..... 81
4. Annual fluctuation in Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) larval catch from 2007 to 2010 in waters surrounding the Ryukyu Archipelago, Japan
N. Suzuki, T. Tanabe, K. Nohara, W. Doi, H. Ashida, T. Kameda, Y. Aonuma 87
5. Climate change impacts on spawning grounds of Atlantic tuna in the northern Gulf of Mexico
B. Muhling, Y. Liu, S-K. Lee, J. Lamkin, W. Ingram 101
6. What can stable isotope studies tell us about early life trophic pathways of top predator larvae? A case study of bullet tuna larvae
A. García, R. Laiz-Carrión, J.M. Quintanilla, A. Pérez-Torres, F. Alemany 105
7. Diet of young Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in eastern and western Atlantic foraging grounds
J.M. Logan, E. Rodríguez-Marín, N. Goñi, S. Barreiro, H. Arrizabalaga, W. Golet, M. Lutcavage ... 109
8. Habitat utilization by small cetaceans in summer in the North Pacific
Y. Kanaji, M. Okazaki, T. Miyashita..... 111
9. Shift in trophic role of northern fur seals in the northwestern Pacific Ocean
S. Yonezaki, M. Kiyota 115
10. Review of trophic interactions of the jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, in the southeastern Pacific Ocean
Y. Kato, T. Wakabayashi, M. Sakai 119
11. Numerical studies focusing on the early life stages of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*)
M. Masujima, Y. Kato, K. Segawa 121

12. Potential application of an underwater towing camera system for a trolling survey of southern bluefin tuna recruitment O. Sakai, T. Itoh	127
13. Ontogenetic changes in schooling behavior and visual sensitivity during larval and juvenile stages in Pacific bluefin tuna, <i>Thunnus orientalis</i> H. Fukuda, S. Torisawa, T. Takagi	135

Joint FRA-CLIOTOP Workshop on Advancing Comparative Ecological Studies of Early Life History and Recruitment Strategy of Bluefin Tunas and Related Species, and Effects of Environmental Changes on Fluctuations of Oceanic Top Predators

September 20 to 23, 2011

National Research Institute of Far Seas Fisheries, Shizuoka

Background

The early life history dynamics of oceanic top predators are tightly linked to environmental processes that are influenced by global climate. Biological processes, such as distribution, movement, growth and survival in relation to environmental factors, all contribute toward the observed variations in the recruitment of oceanic top predators. Consequently, increasing our knowledge of aspects such as the early life histories of top predators, adult spawning activities, seasonal and/or annual changes in reproductive parameters with environmental factors, prey availability and predation intensity during larval periods, are all considered important. In order to better understand these issues, a comparative approach for studying the early life histories of oceanic top predators in different regions and oceans will be useful for understanding the impacts of climate variability on ocean ecosystem dynamics.

The membership of CLIOTOP-WG1 consists of approximately 20 scientists, mainly from Japan, Spain and USA. Since 2004, the WG1 has convened two workshops - the 2005 Malaga Workshop and 2007 Shimizu Joint FRA-CLIOTOP Workshop. Through these meetings, our knowledge of the early life dynamics of top predators has progressed considerably and our understanding of ocean ecosystems has also increased.

To extend these findings and further examine the possible scenarios for oceanic ecosystems in the 21st century, CLIOTOP, which is in its second five-year phase (2010-2014), convened the 2010 Paris Mid-Term workshop.

Based on the results that have emerged from these meetings, the Second FRA-CLIOTOP Joint Workshop was held at the NRIFS in Shimizu in September 2011.

Objectives of the workshop

The primary aim of the Joint FRA-CLIOTOP workshop on “Advancing comparative ecological studies of early life history and recruitment strategy of bluefin tunas and related species, and effects of environmental changes on fluctuations of oceanic top predators” was to collate new information on the early life histories and recruitment strategies employed by tuna and related species in different regions in collaboration with CLIOTOP WG1. CLIOTOP WG1 is currently focusing on the early life histories and recruitment dynamics of oceanic top predators in an attempt to resolve the following key scientific questions:

- What environmental characteristics define the timing and intensity of reproduction and spawning areas?
- What environmental and biological characteristics most influence larval survival?

The joint FRA-CLIOTOP workshop also highlighted the effects of environmental changes on fluctuations in the populations of oceanic top predators, such as bluefin tuna and related

species, through examining their foraging activities. These findings were presented in collaboration with CLIOTOP WG3, which focuses on the trophic pathways in open ocean ecosystems in order to address the following key scientific questions:

- What are the main trophic pathways and how do they differ among and within oceans?
- Is there evidence of change in trophic pathways over time and space consistent with climate variability? Can seasonal and spatial variability be used to explore the impacts of climate variability?
- What is the relative importance of mesopelagic versus epipelagic prey resources in oceanic top predators, and how does this vary within and among oceans. How does climate variability affect the distribution and availability of mesopelagic and epipelagic prey?
- Is it possible to identify indicators, such as prey species or size spectra, that would highlight significant changes in trophic pathways?

In addition, the workshop reviewed recent scientific findings and developed research programs focusing on the early life history and recruitment strategies of oceanic top predators, such as bluefin tuna, other tuna species, tuna-like species, and ecologically similar species, and also to assess the effects of environmental change on marine ecosystems and the population dynamics of these oceanic top predators.

Finally, the workshop examined future plans to analyze the early life histories and recruitment strategies of oceanic top predators within the context of the ultimate objective of these studies, i.e. the development of a robust, predictive methods for assessing the dynamics of top predator populations and oceanic ecosystems in ways that consider the impacts of both fishing and the environment, in conjunction with CLIOTOP workgroups.

Program

Tuesday, September 20, 2011

0930 – 1030 Registration

Agenda Item 1. Introductory Items

<Convener, T. Tanabe>

1030 – 1050 Opening of the meeting

Welcome participants

<Y. Uozumi, Director-General, National Research Institute of Far Seas Fisheries>

Introduction of the participants

Appointment of chairpersons

Adoption of the agenda

Appointment of rapporteurs

Logistical information

Agenda Item 2. Environmental and biological characteristics influencing the distribution, growth, survival, and recruitment of the early life stages of pelagic top predators

<Chairperson, A. Garcia>

<Key note presentations>

1050 – 1130 Interannual larval growth and condition variability of bluefin (*Thunnus thynnus*) consequent with climate-induced environmental changes off the Balearic Sea (A. García, D. Cortés, J. Quintanilla, F. Alemany, L. Quintanilla, J.M. Rodríguez, T. Ramírez).

1130 – 1210 Early life history of Atlantic reef and pelagic fishes: using otolith microstructure to reveal ecological and oceanographic processes (S. Sponaugle).

1210 – 1340 Lunch break

<General presentations>

1340 – 1410 Regional and taxonomic comparisons of the feeding ecologies of larval tunas, mackerels, and billfishes (J. Llopiz).

1410 – 1440 Study on transport, distribution and growth of larval patch of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) in the northwestern Pacific Ocean (K. Satoh, M. Masujima, Y. Tanaka, M. Okazaki).

1440 – 1510 Annual changes in larval catches of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) from 2007 to 2010 around the Ryukyu Archipelago (N. Suzuki, T. Tanabe, W. Doi, H. Ashida, T. Kameda, Y. Aonuma).

1510 – 1540 Coffee break

<Chairperson, J. Llopiz>

1540 – 1610 Environmental factors affecting tuna larvae distribution in the Balearic Sea (F. Alemany, P. Reglero, A. García).

1610 – 1640 Climate change impacts on spawning grounds of Atlantic tunas in the northern Gulf of Mexico (B. Muhling, J. Lamkin, Y. Liu, S-K. Lee).

1640 – 1710 Incorporating habitat preference information in the development of annual

abundance indices of bluefin tuna in the U.S. Gulf of Mexico (G.W. Ingram Jr, B.A. Muhling, J.T. Lamkin).

Wednesday, September 21, 2011

<Adjourned due to typhoon warning>

Thursday, September 22, 2011

Agenda Item 3. Recent progress in CLIOTOP activities: from perspectives of advancing comparative life history studies on bluefin tuna and related species and effects of environmental changes on oceanic top predators

<Chairperson, J. Llopiz>

0900 – 0925 Overview of CLIOTOP activities (J. Young).

Agenda Item 4. Trophic pathways and relative importance of prey resources

<Chairperson, M. Kiyota>

<Key note presentation>

0925 – 1000 Trophodynamics of ocean top predators: a comparative study from the Indian, Atlantic and Pacific Oceans (J. Young, R. Olson, F. Menard, L. Duffy, P. Kuhner).

<General presentations>

1000 – 1025 What can stable isotope studies tell us about early life trophic pathways of top predator larvae? Case study of bullet tuna larvae (A. García, R. Laiz-Carrión, J.M. Quintanilla, A. Pérez-Torres, P. Reglero, F. Alemany).

1025 – 1040 Coffee Break

1040 – 1105 Diet of young Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in eastern and western Atlantic forage grounds (J.M. Logan, E. Rodríguez-Marín, N. Goñi, S. Barreiro, H. Arrizabalaga, W. Golet, M. Lutcavage).

<Mini-Session: Current progress on research on non-tuna top predators and mesopelagic midtroph>

1105 – 1115 Introduction for current progress on researches for non-tuna top predators and mesopelagic midtroph (M. Kiyota).

1115 – 1140 Habitat utilization in summer by small cetaceans in the North Pacific (Y. Kana-ji, M. Okazaki, T. Miyashita).

1140 – 1205 Shift in trophic role of northern fur seals in the northwestern Pacific Ocean (S. Yonezaki, M. Kiyota).

1205 – 1305 Lunch break

1305 – 1330 Trophic interactions of the jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, in the south-eastern Pacific Ocean (Y. Kato, T. Wakabayashi, M. Sakai) .

1330 – 1355 Development of an acoustic-optical system for myctophid fishes (K. Sawada).

Agenda Item 5. Recent progress in research activities targeting oceanic top predators

<Chairperson, J. Young>

<General presentations>

1355 – 1420 Numerical studies focusing on the early life stage of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) (M. Masujima, Y. Kato, K. Segawa).

1420 – 1445 Potential application of an underwater towing camera system enabling direct observation of fish behavior towards a trolling lure in monitoring of recruitment status in southern bluefin tuna (O. Sakai, T. Itoh).

1445 – 1500 Coffee break

1500 – 1525 Ontogenetic changes in schooling behavior and visual sensitivity during larval and juvenile stages in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (H. Fukuda, S. Torisawa, T. Takagi).

Agenda Item 6. On-going and future research plans for larval tuna ecology

<Chairperson, J. Young>

<General presentations>

1525 – 1550 Bluefin tuna larval ecology studies off the Balearic Sea: historical review, ongoing projects and future plans (F. Alemany, A. García).

1550 – 1615 A collaborative approach to larval bluefin tuna ecology (J. Lamkin, F. Alemany, W. Ingram, A. Garcia, B. Muhling, E. Malca).

1615 – 1640 NRIFSF research plan for Pacific bluefin tuna biology and ecology (O. Abe, W. Doi, I. Yamasaki).

Agenda Item 7. Future meeting and publications

<Chairperson, T. Tanabe>

1640 – 1650 Future meeting schedule and publication of workshop proceedings

<Reporting>

1650 – 1800 Reporting (chairpersons, conveners and rapporteurs meet to report on the workshop)

Friday, September 23, 2011

0900 – 1000 Reporting (continued)

1000 – 1030 Coffee break

Agenda Item 8. Adoption of the workshop report

<Chairperson, A. Garcia>

1030 – 1230 Adoption of the workshop report

Agenda Item 9. Closing of the workshop

1230 – 1240 Closing remarks

Interannual larval growth and condition variability of bluefin (*Thunnus thynnus*) consequent with climate-induced environmental changes off the Balearic Sea

Alberto GARCÍA^{*1}, Dolores CORTÉS¹, Jose María QUINTANILLA¹, Francisco ALEMANY², Jose Maria RODRÍGUEZ³, and Teodoro RÁMIREZ¹

Abstract : Daily growth and nutritional condition variability of bluefin (*Thunnus thynnus*) larvae sampled in their Balearic Sea spawning grounds during the 2003-2005 spawning seasons is examined (Fig. 1). All the annual surveys were carried out during June/July (García *et al.*, 2013). Environmental conditions during the 2003-2005 bluefin spawning seasons varied greatly as a result of the 2003 heat wave which caused substantial changes in the NW Mediterranean ecosystem (Schär *et al.*, 2004; Schiaparelli, *et al.*, 2007). As a result of the warming anomaly, an average increase of 2.7°C in surface waters (T10), low microzooplankton dry weight biomass (MDW, a proxy of larval food availability) and highest protein/microzooplankton dry weight ratios (PROT/MDW, a food quality proxy) was observed. In contrast, the 2004 bluefin spawning habitat was subject to the highest MDW and coldest T10 that suggest greater fertilization processes occurring in the area. The 2005 showed an intermediate environmental situation with significantly higher T10 than 2004 and lower MDW in comparison to 2004. Nonetheless, this difference was reflected in their difference between their respective PROT/MDW ratios (Fig. 2). The 2003 bluefin tuna (BFT) larval cohort showed fastest growth, recognizable from the enhanced otolith and somatic mass increment in comparison with the 2004-2005 larval cohorts (García *et al.*, 2013), while the latter larval cohorts did not differ statistically (Fig. 3). The 2003 bluefin larval cohort showed significantly greater weight with standard length than the 2004-2005 larval cohorts. Consequently, the 2003 larvae had a significantly higher amount of DNA, RNA and proteins with standard length (Fig. 4) (Cortés *et al.*, 2007). Nonetheless, RNA/DNA ratios of the 2003 larvae were significantly lower than the 2004 larval cohort due to a significant temperature effect on these ratios. Overall, the mean RNA/DNA ratios of all the BFT larvae collected showed a significant linear decrease with surface temperature (Fig. 5).

The daily growth analysis showed that somatic and otolith growth rates were significantly related with T10 and MDW, as well as the PROT/MDW ratios. Otolith growth rates (OGR) showed significant interactions with T10*PROT/MDW and T10*MDW. Higher OGR is observed when T10 is high (H), MDW is low (L) and PROT/MDW is high (H), coinciding with the 2003 environmental scenario, which observed an anomalous warming of surface temperature, low planktonic biomass and possibly of greater larval feeding quality (Fig. 6). Somatic growth, expressed as larval DW growth increase (DWGR), showed three-factor significant interactions with T10*MDW*PROT/MDW (Fig. 7).

Key words : bluefin larvae, daily growth, climate variation, surface temperature, microzooplankton, Balearic Sea

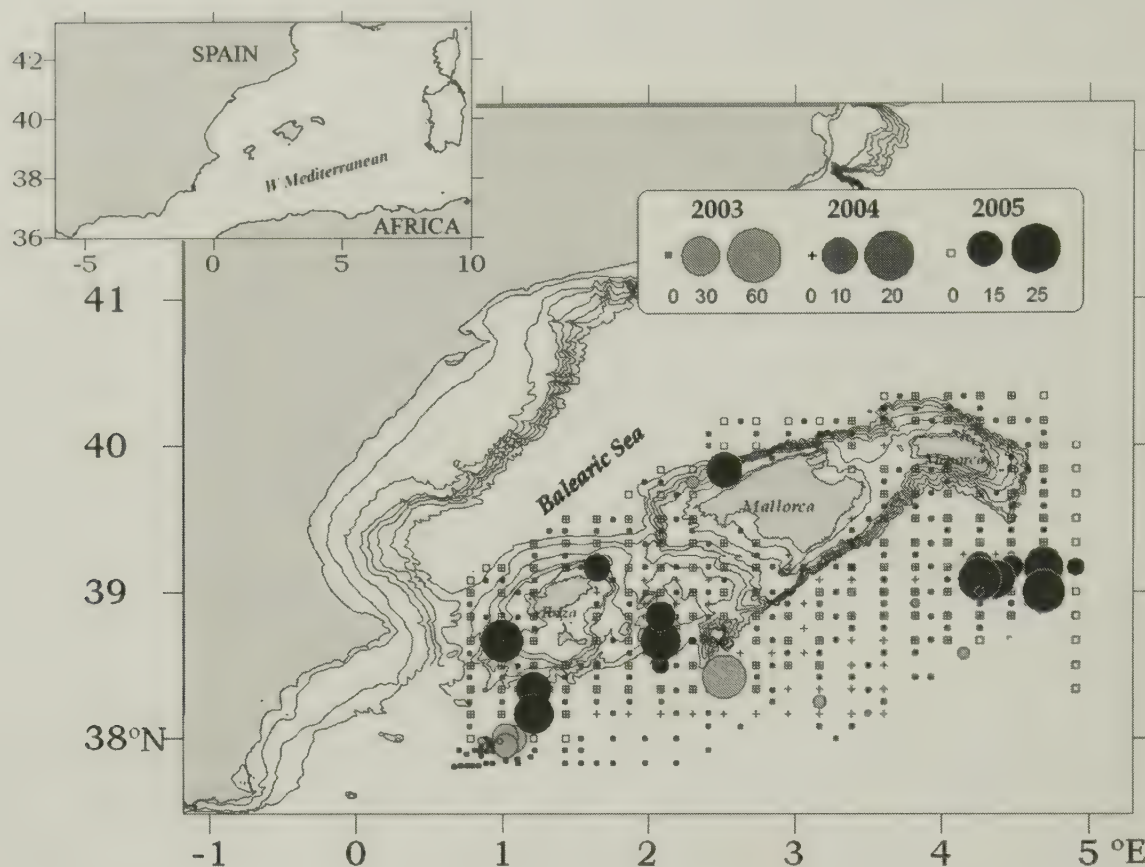


Fig. 1. BFT larvae sampled for the growth study represented by proportional circles for each survey with the TUNIBAL sampling grid in the background.

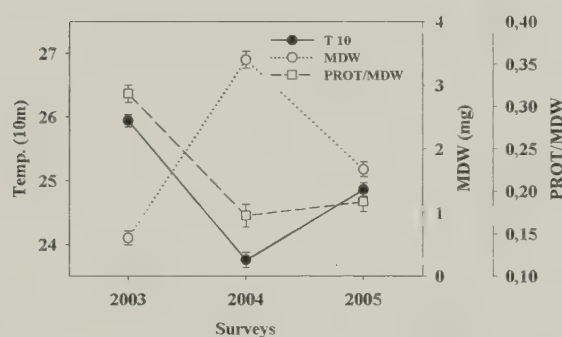


Fig. 2. ANOVA result test for temperature at 10 m depth ($F_{2, 385} = 381.04$ $p < 0.01$), MDW ($F_{2, 385} = 522.23$ $p < 0.01$), and the PROT/MDW ratio ($F_{2, 385} = 183.04$ $p < 0.01$), undertaken in positive BFT hauls.

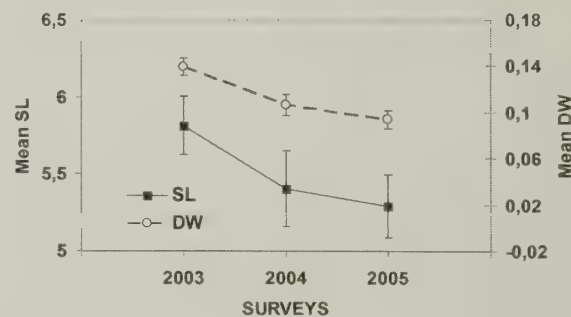


Fig. 3. Results of ANCOVA of SL vs DI (daily increments) and DW vs DI using DI as covariate. Significant difference is observed between 2003 and 2004-2005 in SL vs DI and DW vs DI relationships ($p < 0.01$). The paired 2004-2005 did not show significant difference ($p > 0.05$) (from García et al., 2013).

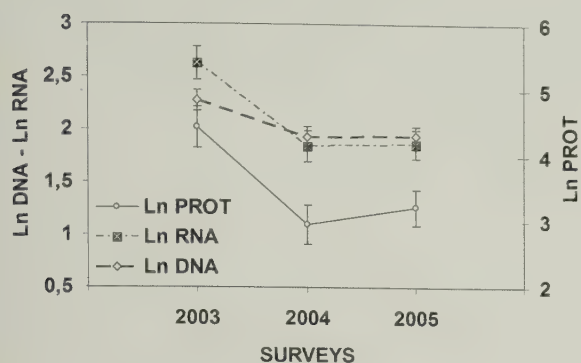


Fig. 4. Results of ANCOVA of LnDNA, LnRNA and LnPROT vs LnSL using LnSL as covariate. Significant difference is observed between 2003 and 2004-2005 in LnDNA, LnRNA and LnPROT vs LnSL relationships ($p < 0.01$). The paired 2004-2005 did not show significant difference ($p > 0.05$).

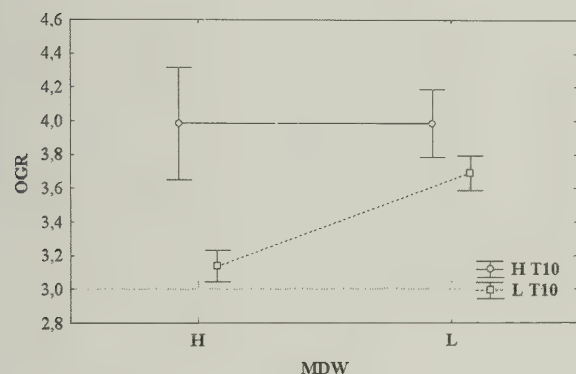


Fig. 6. Multi-factorial ANOVA of otolith growth rate (OGR) and the interaction of T10 and PROT/MDW.

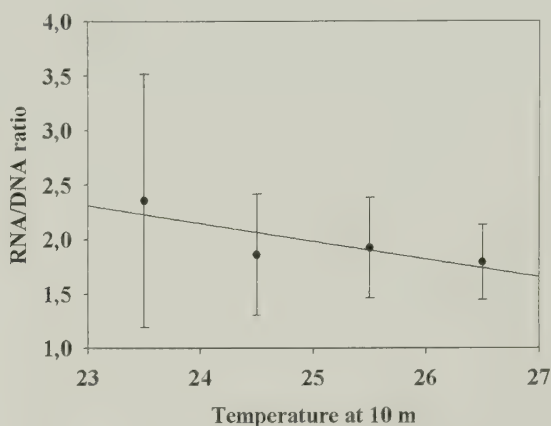


Fig. 5. Averaged RNA/DNA ratios by one Celsius temperature degree.

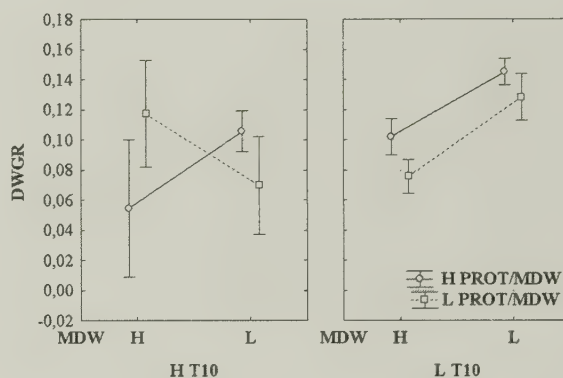


Fig. 7. Multi-factorial ANOVA of somatic growth rate (DWGR) and the interaction of T10, MDW and PROT/MDW.

References

- Cortés, D., Ramirez, T. T., García, A., Alemany, F., Alvarez, J.P., and Quintanilla J. J., 2007: Interannual variability (2003–2005) of nutritional condition of field-caught larval bluefin measured by RNA/DNA index in the Balearic Sea. In: *1st CLIOTOP Symposium*, Abstract Book, 3–7 December 2007, La Paz, Mexico.
- García, A., Cortés D., Quintanilla J., Ramírez T., Quintanilla L., Rodríguez, J. M., and Alemany F., 2013: Climate-induced environmental conditions influencing interannual variability of Mediterranean bluefin (*Thunnus thynnus*) larval growth. *Fish. Oceanogr.*, **22** (4), 273–287.
- Schär, C., Vidale, P. L., Lüthi, D., Frei, C., Häberli, C., Liniger M. A., and Appenzeller C., 2004: The role of increasing temperature variability in European summer heat waves. *Nature*, **427** (22), 332–336.
- Schiaparelli, S., Castellano, M., Povero, P., Sartoni G., and Cattaneo-Vietti, R., 2007: A benthic mucilage event in North-Western Mediterranean Sea and its possible relationships with the summer 2003 European heatwave: short term effects on littoral rocky assemblages. *Mar. Ecol.* **28**, 341–353.

Early life history of Atlantic reef & pelagic fishes: using otolith microstructure to reveal ecological & oceanographic processes

Su SPONAUGLE^{*1}

Abstract : Otolith microstructure analyses of larval and juvenile fishes from the western Atlantic have revealed the influence of oceanographic features on larval growth, and a combination of these data with the analysis of gut contents has demonstrated that growth is related to the amount and type of prey consumed. For example, larvae of the bluehead wrasse, *Thalassoma bifasciatum* (Labridae), with fuller guts grow faster, resulting in a distinct spatial pattern of growth which tracks environmental prey abundance. Several snapper (Lutjanidae) and barracuda (Sphyraenidae) exhibit similar spatial patterns of larval growth. Similarly, blue marlin (*Makaira nigricans*) larvae feeding on higher proportions of a particular crustacean prey (*Farranula* copepods) grow faster than those feeding on other prey. For billfish larvae, switching early to piscivory enhances survival. As a result of such pelagic processes, fish larvae transitioning to juvenile stages can exhibit considerable variation in early life history traits, setting the stage for trait-based selective mortality of young juveniles. Linking these early stages via otoliths demonstrates that processes occurring in one stage can affect survival in a subsequent stage, with the pattern of selective mortality varying between seasons and among species. Otolith-based studies can further our knowledge of the oceanographic processes affecting a diversity of species.

Introduction

Otolith microstructure studies have the potential to reveal the dynamics of a number of ecological and oceanographic processes that underlie our understanding of the population dynamics of marine fishes. Such ecological and oceanographic processes are increasingly important to effective management and conservation of fish populations in a changing world. A recent review emphasizes the contributions of otolith microstructure studies to ecology, fisheries oceanography, and management by highlighting examples from a diverse range of taxonomic groups and geographic locations (Sponaugle, 2010). For the purposes of this presentation, I am narrowing the scope to briefly outline several recent studies conducted in my laboratory on the early life stages of reef and pelagic species in the western Atlantic Ocean. Although the focus of the present workshop

is on pelagic top predators, the reef fish examples I present provide a useful illustration of the overall approach and utility of otolith microstructure studies, particularly as combined with other studies such as diet analyses. Many of the oceanographic processes revealed in these studies are broadly applicable to a diversity of coastal and pelagic species.

The examples, or case studies, presented here are focused on a suite of processes occurring during the pelagic larval stage of a diversity of fish species as well as during the transition between the pelagic larval stage to the reef-associated juvenile stage for several reef fishes. These encompass (1) the physical and biological processes influencing larval growth, and (2) the influence of growth on larval survival, leading to (3) variation in the early life history traits of settlement stage fishes, and (4) differential trait- and behavior-mediated survival of juveniles.

Case Studies

(1) Larval Growth

The coral reefs of the Florida Keys comprise the most extensive coral reef system in the continental United States, and, interestingly, they exist in a subtropical environment where water temperature fluctuates by $\sim 10^\circ\text{C}$ over the year. Recruitment¹ of most reef fish peaks in the warmer summer months, but for some species, settlement of pelagic larvae to the reef occurs year-round. We collected 13 cohorts of juvenile bluehead wrasse, *Thalassoma bifasciatum*, over 4 yrs in the upper Florida Keys (Sponaugle *et al.* 2006). Examination of their otoliths revealed that high variation in larval growth was significantly related to water temperature during the larval period. Variation in mean water temperature explained 78% of the variation in larval growth among cohorts. Further, faster-growing fish in warmer waters had significantly shorter pelagic larval durations (PLDs), with variation in larval growth explaining 85% of the variation in PLD. As a result, the seasonal fluctuation in water temperature of 10°C led to a 15-d difference in the time larvae spent at sea (Sponaugle *et al.*, 2006). With a mean PLD of ~ 50 d, this represents a 30% difference in the time larvae remain in the dispersive pelagic phase. Such a difference in PLD has the potential to not only affect total mortality during the larval phase, but also the distance over which larvae are transported, resulting in seasonal fluctuations in population connectivity (see Cowen and Sponaugle, 2009).

In another example of the influence of the physical environment on larval growth, we compared the larval growth of *T. bifasciatum* juveniles collected from the upstream Caribbean island of Barbados (Sponaugle and Pinkard, 2004). Water temperatures at this oceanic location are more stable, but transient mesoscale low-salinity current rings frequently impinge upon the island, changing the composition of the nearshore waters. These current rings form as the North Brazil Current (NBC) retroflexes off Brazil to form the North Equatorial Counter Current. NBC rings pinch off low salinity water from the Amazon

and Orinoco Rivers and move northwestward up and through the Lesser Antilles island chain, frequently passing directly by Barbados. We recorded the passage of these recirculating rings by the island via the 18-mo. deployment off the island of a deep-water mooring that measured salinity. A NBC ring was considered to be present in the vicinity of Barbados when the salinity at 10-13 m dropped below 34.5. During the 18-mo period, we recorded a total of six low-salinity NBC rings that passed the island. Some passed very quickly, with their signal evident for only a few days, while one ring impacted the surrounding waters over multiple months.

During this same period we surveyed and collected juvenile *T. bifasciatum* from the reefs of Barbados every 2 wks. Because Barbados is upstream of all other reefs, we could assume that larvae that settled to the island were sourced from the island, i.e. were present in the water surrounding the island during their entire larval life. We used otolith microstructure analysis to examine larval growth of these juveniles and compared the growth of fish that encountered a ring as larvae versus those that did not. Fish that encountered a low-salinity NBC ring during their larval life had significantly slower growth than those that did not encounter the water mass (Sponaugle and Pinkard, 2004; see also Sponaugle and Grorud-Colvert, 2006). As there was no significant temperature change between ring and no-ring periods, it may have been due to a shift in prey availability with the changing water masses. Thus, larval encounter with different water masses during larval period can significantly influence larval growth, and consequently, survival.

In addition to the physical larval environment, biological processes can influence larval growth. In this example study, we examined the growth of larval *T. bifasciatum* directly (as opposed to hindcasting larval growth from the otolith record of successfully settled juveniles). Nearshore waters frequently differ from offshore waters in nutrient content so the location of larvae during the pelagic stage has the potential to influence their growth. In the Florida Straits, a major western boundary current (the Florida Current) flows along the coast of

¹ Recruitment is defined here as the entry of young into the juvenile and adult population after the settlement of pelagic larvae to the juvenile habitat.

Florida, which, together with the passage of recirculating mesoscale eddies results in nearshore upwelling. Enhanced nutrients on the western (Miami side) of the Straits are translated into higher primary production and higher microzooplankton and total plankton in the western Straits than the eastern Straits (Llopiz, 2008). We used ichthyoplankton samples collected monthly along a transect across the Straits of Florida (see Llopiz and Cowen, 2008) to examine larval growth on either side of the Straits of Florida (Sponaugle *et al.*, 2009). We examined the sagittal otoliths and gut contents of larval *T. bifasciatum* collected during two months with similar water temperatures (September 2003 and October 2004). For both months, larvae from the western Straits of Florida grew faster, were larger-at-age, and had fuller guts than those collected from the central or eastern stations. Comparison of prey availability for a sample of stations revealed that gut fullness was directly related to environmental prey availability. These patterns were echoed in a similar study of two commercially important snapper species (D' Alessandro *et al.*, 2010). For both yellowtail (*Ocyurus chrysurus*) and lane (*Lutjanus synagris*) snappers, larval growth was highest in the western Straits of Florida, tracking the abundance of their primary prey, appendicularians (Llopiz, unpubl. data). Thus, for multiple fish species, larvae in proximity to highly productive coastal areas grow faster and attain larger sizes-at-age as a result of increased availability of their preferred prey.

(2) Larval survival

Variable patterns of larval growth can lead to patterns of differential survival for particular individuals. In another analysis of spatial patterns of growth in larval billfishes in the Straits of Florida, and in contrast to our results for reef fishes, we found few significant differences in larval growth between larvae on the western and eastern side of the Straits (Sponaugle *et al.*, 2010). However, it is possible that billfish larvae move frequently among water masses and that their capture location is not where they spent their entire larval period. Therefore, to refine our analysis, we examined "recent growth" during the last two full days prior to capture, being careful to detrend the data to

account for different larval ages. This analysis revealed that blue marlin (*Makaira nigricans*) in the western Straits grew more rapidly in the 2 d prior to capture than larvae from the eastern Straits; recent growth of sailfish (*Istiophorus platypterus*) did not differ between the regions. Gut content analysis revealed that the enhanced growth of blue marlin larvae in the western Straits was primarily due to significant differences in smaller larvae consuming zooplankton. Larvae with a higher percent of *Farranula* copepods in their guts grew significantly faster than those with lower proportions of the prey. We also compared growth at particular points in small (< 9 mm SL) and large ($\geq$ 9 mm SL) billfish larvae to examine whether mortality was selective for particular traits. Our sampling design precluded tracking a cohort over time, so instead we combined all larvae collected over the 10 summer cruises and divided them by size, assuming that the larvae experienced similar environments and consistent patterns of selective loss over time, resulting in larger (older larvae) having, on average, a higher likelihood of survival. For both blue marlin and sailfish, growth trajectories diverged at 5-8 mm SL, the size at which the transition to piscivory occurs. By day 7 (sailfish) and 10 (blue marlin) of early life, larvae that survived longer (i.e., attained larger sizes and older ages in our samples and had transitioned to piscivory) grew significantly faster than larvae collected at smaller sizes (younger ages; zooplanktivorous), indicating that mortality was selective for fast growers. Early onset of piscivory appears to be a critical point in the early life history of billfish. In sum, environmental availability of prey influenced growth of the younger, zooplanktivorous larvae, creating spatial patterns of growth for blue marlin that paralleled environmental productivity. But once larvae switched to piscivory, growth accelerated and spatial differences in larval growth disappeared. However, the timing of this diet transition has the potential to significantly influence larval survival as mortality favors fast growers (Sponaugle *et al.*, 2010).

These tight relationships between diet, growth, piscivory, and larval survival are echoed in another top predator, barracuda (*Sphyræna barracuda*). Growth of barracuda larvae collected from the

Straits of Florida varied seasonally with faster growth during the wet season and slower growth during the dry season (D' Alessandro *et al.*, 2011). Gut content analysis demonstrated that higher growth during the wet season was associated with the presence of larval fish in the guts of barracuda larvae > 10 mm SL; no larval fish prey were found in barracuda guts in the dry season. Comparison of otolith growth trajectories of younger (initial population) and older (surviving) larvae revealed that, similar to our findings for billfish larvae, mortality is selective and removes slow-growing individuals from the population over time (D' Alessandro *et al.*, 2013).

(3) Variation in early life history traits of settlers

As a consequence of variable pelagic environments, and variable larval growth and survival, late-stage larvae that settle to nearshore juvenile habitats have a range of early life history traits. We divided bluehead wrasse, *T. bifasciatum*, that recently settled to the Florida Keys into those that settled during times of relatively cool water temperatures (22.8–24.8 °C) versus those that settled during warmer water temperatures (26.4–29.3 °C) and examined a suite of otolith-derived early life history traits. The traits of the two groups differed substantially, with warmer water fish exhibiting higher larval growth and shorter PLDs than cool water fish (Sponaugle and Grorud-Colvert, 2006). Thus, environments and events encountered by larvae can “carry-over” to influence the composition of young entering the juvenile and adult population.

(4) Trait- and behavior-mediated survival of juveniles

To examine patterns of survival post-settlement, we conducted a number of studies to track cohorts of settlers over time. Comparison of three age groups of juvenile bluehead wrasse, *T. bifasciatum* (young: 0–4 d post-settlement, intermediates: 5–9 d, and survivors: ≥ 10 d; Grorud-Colvert and Sponaugle, 2011), and four age groups of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus* (settlement-stage larvae, young settlers: 0–6 d post-settlement, intermediates: 7–13 d, and survivors: 14–20 d; Rankin and Sponaugle, 2011), revealed contrasting patterns of selective mortality. For three traits that can be measured from the otoliths of both

species, the traits exhibited by survivors differed significantly from those of the initial (young) settlers or settlement-stage larvae. Surviving wrasse had significantly shorter PLDs, settled at smaller sizes, and exhibited faster early juvenile growth, while surviving damselfish had significantly longer PLDs, settled at larger sizes, and exhibited slower juvenile growth. Experimental behavioral studies provided insight into the proximal mechanism of selection: high condition juvenile wrasse that settled at shorter PLDs and at smaller sizes swam faster and evaded simulated predators more rapidly (Grorud-Colvert and Sponaugle, 2006). While larger territorial juvenile damselfish had higher survival rates (i.e. refuge from gape-limited predators), they spent more time in aggressive interactions with conspecifics, which reduced the energy available for growth (Rankin and Sponaugle, unpubl. data).

Other early life history traits also can influence survival across stages. We recently tracked cohorts of two commercially and recreationally important snapper from the pelagic larval stage through settlement to the older juvenile stage. Otolith microstructure analysis revealed that size-at-hatch not only influenced survival in the pelagic stage but also during settlement and into juvenile life (D' Alessandro *et al.* 2013).

Finally, patterns of trait-based survival can shift seasonally within a species. Seasonal fluctuations in water temperature not only lead to shifts in the distribution of larval and juvenile traits [as illustrated in sections (1) and (3)], but also can influence the strength and direction of selection (Grorud-Colvert and Sponaugle, 2011; Rankin and Sponaugle, 2011). For example, for seven cohorts of *T. bifasciatum*, condition at settlement (as measured by otolith metamorphic band width) varied with water temperature; however, the “optimum” condition level for survival was similar across seasons, resulting in differential patterns of selective mortality during different times of the year. Selective mortality in favor of higher condition was particularly strong in the winter when mean settlement condition was quite low (Grorud-Colvert and Sponaugle, 2011). Likewise, for 16 cohorts of *S. partitus* juveniles, selection on two primary traits (size-at-settlement and juvenile growth) was

consistent year-round, while selective loss of two other traits (PLD and larval growth) changed between winter, spring, and summer months (Rankin and Sponaugle, 2011).

Conclusions

Otolith microstructure analysis of multiple life stages enables the close examination of ecological and oceanographic processes that influence survival of young marine fish. Environmental patchiness and fluctuations in water temperature can influence larval growth and survival, and variation in larval traits can carry-over and influence both the composition of settlers and the survival of juveniles. Analysis of otoliths enables the tracking of cohorts and evaluation of their relative success over time. Combining otolith microstructure studies with oceanographic measurements, individual diet and gut analyses, and behavioral experiments provides a powerful means of studying the processes that influence the growth and survival of the young stages of important fish populations. Finally, while much of our work has focused on small reef fishes with limited fisheries applicability, the processes revealed by their study are relevant to a diversity of marine fishes and other organisms.

Acknowledgements

I acknowledge my coauthors, colleagues, students, and laboratory personnel for their collaboration in the studies presented here. Most of the research was supported through grants from the U.S. National Science Foundation. I thank Dr. Toshiyuki Tanabe for the invitation and financial support to participate in the FRA-CLIOTOP workshop in Shimizu, Japan. Many thanks to all of our gracious hosts at the National Research Institute of Far Seas Fisheries, Fisheries Research Agency of Japan, for the wonderful experience and to all of the workshop participants for stimulating discussions!

References

Cowen R. K. and Sponaugle S., 2009: Larval dispersal and marine population connectivity. *Ann. Rev.*

Mar. Sci., **1**, 443–466.

D' Alessandro E. K., Sponaugle S., Llopiz J. K., and Cowen R. K., 2011: Larval ecology of the great barracuda, *Sphyraena barracuda*, and other sphyraenids in the Straits of Florida. *Mar. Biol.*, **158**, 2625–2638.

D' Alessandro E. K., Sponaugle S., and Cowen R. K., 2013: Selective mortality during the larval and juvenile stages of snappers (Lutjanidae) and great barracuda (*Sphyraena barracuda*). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **474**, 227–242.

D' Alessandro E. K., Sponaugle S., and Serafy J., 2010: Larval ecology of a suite of snappers (family: Lutjanidae) in the Straits of Florida. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **410**, 159–175.

Grorud-Colvert K. and Sponaugle S., 2006: Influence of condition on behavior and survival potential of a newly settled coral reef fish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **327**, 279–288.

Grorud-Colvert K. and Sponaugle S., 2011: Variability in temperature affects trait-mediated survival a newly settled coral reef fish. *Oecologia*, **165**, 675–689.

Llopiz J. K., 2008: The trophic ecologies of larval billfishes, tunas, and coral reef fishes in the Straits of Florida: piscivory, selectivity, and niche separation. PhD dissertation, University of Miami, Miami, FL

Llopiz J. K. and Cowen R. K., 2008: Precocious, selective and successful feeding of larval billfishes in the oceanic Straits of Florida. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **358**, 231–244.

Rankin T. L. and Sponaugle S., 2011: Temperature influences selective mortality during the early life stages of a coral reef fish. *PLoSOne*, **6**, e16814 doi:10.1371/journal.pone.0016814

Sponaugle S., 2010: Otolith microstructure reveals ecological and oceanographic processes important to fisheries management. *Environ. Biol. Fish.*, **89**, 221–238.

Sponaugle S., Llopiz J. K., Havel L. N., and Rankin T. L., 2009: Spatial variation in larval growth and gut fullness in a coral reef fish. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **383**, 239–249.

Sponaugle S. and Grorud-Colvert K., 2006: Environmental variability, early life history traits, and survival of new recruits of a coral reef

- fish. Integr. Comp. Biol., **46**, 623-633.
- Sponaugle S., Grorud-Colvert K., and Pinkard D., 2006: Temperature-mediated variation in early life history traits and recruitment success of the coral reef fish *Thalassoma bifasciatum* in the Florida Keys. Mar. Ecol. Prog. Ser., **308**, 1-15.
- Sponaugle S. and Pinkard D. R., 2004: Impact of variable pelagic environments on natural larval growth and recruitment of the reef fish *Thalassoma bifasciatum*. J. Fish Biol., **64**, 34-54.
- Sponaugle S., Walter K. D., Denit K., Llopiz J. K., and Cowen R. K., 2010: Variation in pelagic larval growth of Atlantic billfishes: the role of prey composition and selective mortality. Mar. Biol., **157**, 839-849.

Transport, distribution and growth of larval patches of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) in the northwestern Pacific Ocean

Keisuke SATOH^{*1}, Masachika MASUJIMA^{*2}, Yosuke TANAKA^{*3},
Makoto OKAZAKI^{*2}, Yoshiki KATO^{*4}, and Hiroshi SHONO^{*5}

Abstract : The objective of the present study is to provide a clearer understanding of the early life ecology of Pacific bluefin tuna (PBT), *Thunnus orientalis*, with respect to changes in the recruitment process in relation to environmental conditions for a basis for stock management in the northwestern Pacific Ocean. Seven high density larval populations (patches) of PBT were tracked with reference buoys, and repeated sampling was carried out at study sites in the northwestern Pacific Ocean for periods ranging from 28 to 171 hours between the months of May and June from 2004 to 2008. The feasibility of detecting and tracking larval patches as well as appropriate protocols for plankton net observation were determined, and larval transport and distribution were examined. Survival and growth were observed in order to develop a model for these characteristics in larval stage PBT. This document is brief summary of the previous studies.

Key words : larval distribution, larval patch, larval growth, *Thunnus orientalis*, northwestern Pacific Ocean

Introduction

Annual catch volume of Pacific bluefin tuna (PBT), *Thunnus orientalis*, fluctuates greatly, ranging from 9,000 to 35,000 metric tons (Fig. 1). Since the majority of catch volume consists of premature (non-adult, juvenile) fish (Abe *et al.* 2010), annual catches of PBT are influenced by recruitment variability, which has been shown to vary annually by factors of six to ten (Yamada *et al.*, 2006, MacCall and Teo 2011). Recruitment variability of marine fish species is believed to be adjusted during the early life stages, from fertilization to recruitment. Several previous studies regarding the mechanisms that affect recruitment variability have revealed that many factors act simultaneously in order to condition year classes of fish during their early life stages (e.g.

Houde 2009). Factors that affect recruitment variability differ by species as well as by year within a given species, and may even differ between spawning events. Knowledge of PBT larval growth, mortality, advection and diffusion remains incomplete, and mechanisms of recruitment variability are poorly understood. PBT larvae have also been shown to react to biological (e.g. food, predation) and physical conditions (e.g. sea temperature, sea flow) during their early life stages (Satoh *et al.* 2008, Satoh 2010, Satoh 2013). In the above studies, identical larval populations (patches) were tracked, larvae and food organisms were collected, and oceanographic observations were made. These efforts were undertaken in order to develop a clearer understanding of the relationship between environmental conditions and larval growth

2013年9月5日受理 (Received on September 5, 2013)

^{*1} National Research Institute of Far Seas Fisheries, Fisheries Research Agency, 5-7-1 Orido, Shimizu, Shizuoka, 424-8633, Japan

^{*2} National Research Institute of Fisheries Science, Fisheries Research Agency, 2-12-4 Fukuura, Kanazawa, Yokohama, 236-8648, Japan

^{*3} Amami Station, Seikai National Fisheries Research Institute, Fishery Research Agency, 9555 Sakiyambara, Tawara, Setouchi, Oshima, Kagoshima, 894-2414, Japan

^{*4} Tohoku National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, 25-259, Samemachi Shimomekurakubo, Hachinohe, Aomori 031-0841, Japan

^{*5} Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima, Kagoshima, 890-0056, Japan

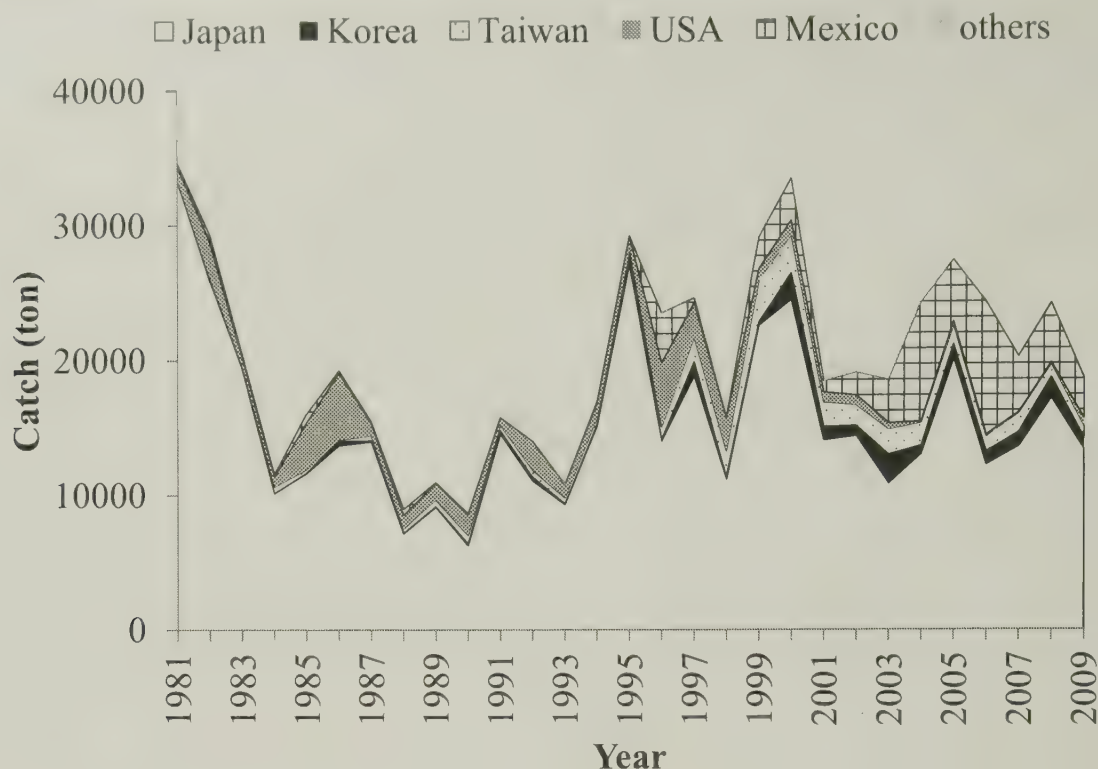


Fig. 1. Variations in annual catch of Pacific bluefin tuna by country (data from http://kokushi.job.affrc.go.jp/H22/H22_04.pdf).

and survival in PBT (Davis *et al.*, 1990, Hearth 1992, Dower *et al.*, 2002).

The objective of the present study was to provide a clearer understanding of the early life ecology of PBT with respect to changes in the recruitment process in relation to environmental conditions, for a basis for stock management in the northwestern Pacific Ocean. The feasibility of detecting and tracking larval patches was determined, larval transport and distribution were studied and appropriate protocols for plankton net observation at sea were established. Larval survival and growth were determined in order to model these characteristics in larval stage PBT. This document is brief summary of the previous studies (Satoh *et al.*, 2008, Satoh 2010, Satoh *et al.* 2013).

Materials and Methods

Sampling was carried out in the northwestern Pacific Ocean, off the coast of the Nansei Islands, Japan, during either May or the period from May to June from 2004 to 2008 (Table 1, Fig. 2). The detail of

material and methods for the present study is described in previous studies (Satoh *et al.*, 2008, Satoh 2010, Satoh *et al.* 2013).

Results and Discussion

Feasibility of detecting and tracking larval patches

Seven high density larval patches of PBT were tracked using reference buoys, and repeated samplings were carried out in the northwestern Pacific Ocean for periods of 28 to 171 hours between May and June from 2004 to 2008 (Fig. 2). Larval patches were detected after an average of 52 samplings (ranging from 6 to 80 total samples) carried out using a 2 m ring plankton net. In the present study, successive collection of larvae from the same patch was essential. Two pieces of evidence indicated that tracking of specific patches over periods of several days to a week had been successful: growth rates estimated from changes in mode of length frequency during each tracking event closely coincided with growth rates (0.25 to

Table 1. Mean temperature and salinity taken at a depth of 0 to 10 m, along with tracking duration, date, as well as start and end time and position. Patches 5 and 6 were not tracked.

Patch name	Tracking duration (hour)	Tracking start (detection)			Tracking end		
Patch 1	54	2004/05/15 23:37	22°N25.568'	124°E34.694'	2004/05/18 05:48	21°N57.908'	124°E46.185'
Patch 2	28	2004/06/01 23:52	26°N07.599'	129°E07.920'	2004/06/03 03:55	26°N07.139'	129°E20.813'
Patch 3	77	2005/06/02 04:47	24°N35.095'	126°E00.030'	2005/06/05 09:40	25°N09.925'	126°E40.373'
Patch 4	171	2006/05/22 02:01	23°N55.495'	124°E46.611'	2006/05/29 05:08	22°N33.514'	125°E20.008'
Patch 5	-	2006/06/13 19:56	24°N30.298'	127°E39.843'			
Patch 6	-	2006/06/14 03:04	24°N29.627'	128°E19.420'			
Patch 7	48	2007/05/17 03:45	22°N57.260'	124°E52.101'	2007/05/19 03:49	23°N17.639'	125°E32.774'
Patch 8	50	2007/05/28 00:54	25°N15.011'	124°E00.002'	2007/05/30 03:16	25°N11.378'	125°E58.647'
Patch 9	69	2008/05/24 03:06	24°N21.564'	127°E00.434'	2008/05/27 00:02	23°N55.079'	127°E36.004'

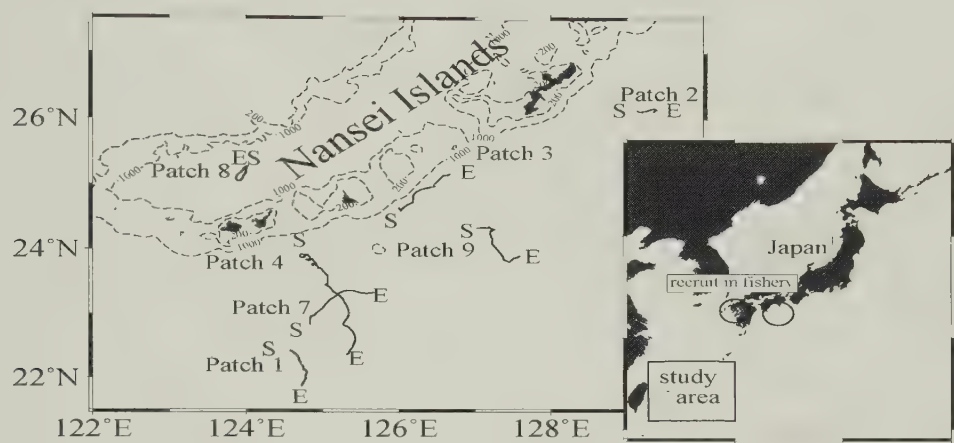


Fig. 2. Map of the study region off the coast of the Nansei Islands, Japan, indicating the 7 study sites and associated patch numbers, with buoy trajectories (solid lines) and tracking start (S) and end positions (E). Dashed lines represent 200 and 1000 m depth contours. large open circles: fishing grounds to which Pacific bluefin tuna are recruited.

0.85 mm day⁻¹, Table 2; Satoh 2010) determined through analysis of otolith daily rings; and buoy trajectories were consistent with the direction of sea currents. PBT larvae were collected from each patch except Patch 8 on the second day of tracking.

Larval transport and distribution

Patches were consisted of a number of cohorts (Fig. 3). Variogram analyses revealed that patches were typically spread over horizontal ranges of 15 km and that ranges of cohorts changed a little for periods of at least five days. Although detailed larval horizontal distributions changed in accordance with oceanographic conditions, larvae from a given assemblage have typically been restricted to the same 15 km range (Fig. 4; Satoh 2010). In order to

detect patches and to determine the extent of their distributions, it was appropriate that plankton net tows should be employed every 7.5 km. Larvae were found to be distributed only within the surface mixed layer, and no discernible vertical diel movement was detected. Patches were entrained in mesoscale eddies (~100 to 500 km diameter) which propagated westward. Some mesoscale eddies in the study area have been known to coalesce with the Kuroshio Current, which meant that spawning areas and recruitment fishing grounds (Fig. 2) associated with patches examined in the present study were also linked to the flow of the Kuroshio. Results of previous study (Satoh 2010) suggested that cohorts possessed a stable spatial structure subsequent to fertilization (i.e. during advection, while entrained in mesoscale eddies). Therefore, it was suggested that

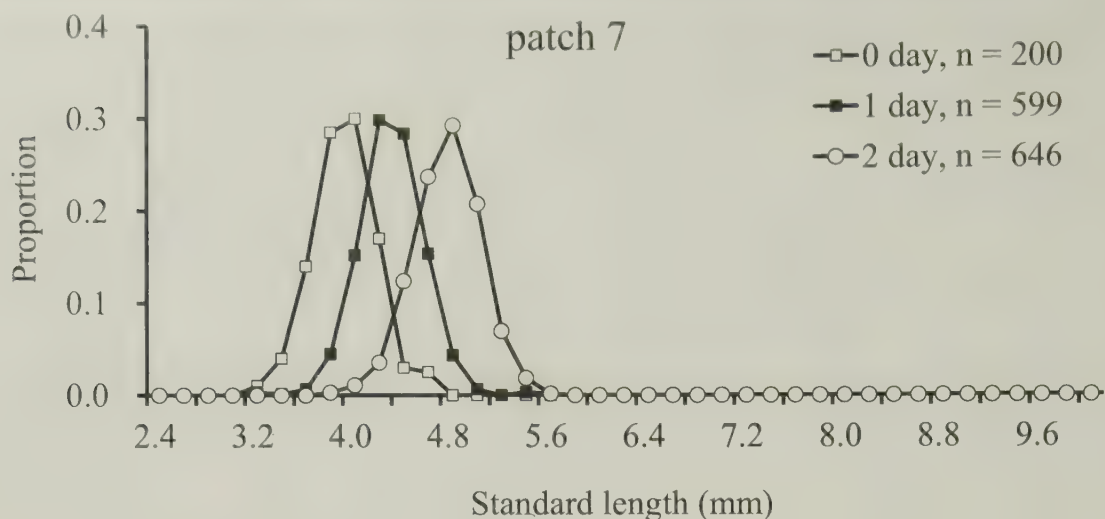


Fig. 3. Length frequency distribution for each day of tracking of patch 7. n: number of specimens measured.

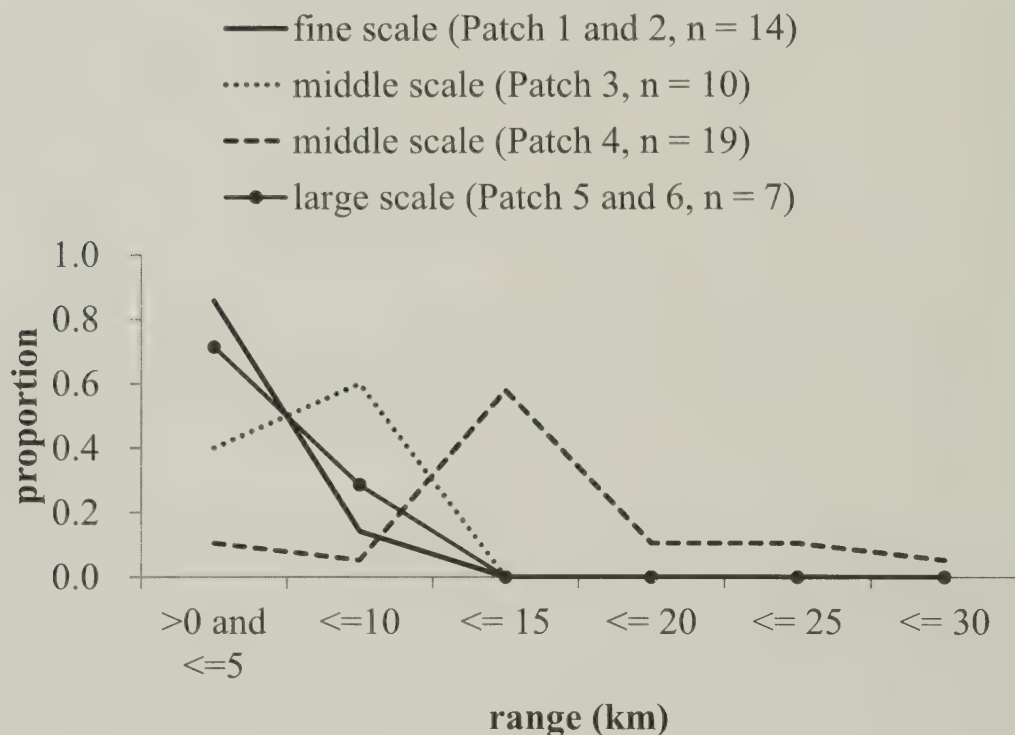


Fig. 4. Distribution of estimated range (variogram parameter that approximated horizontal size (radius) of patches) for each cohort. n: number of larvae in a given cohort.

spatial relationships between spawning events and mesoscale eddies were important to the recruitment process. Significant differences in length frequency distribution between day and night samplings clearly indicated that net avoidance had occurred. A significant difference in length frequency associated

with different bongo net mesh apertures was also detected, which indicated that net extrusion had occurred within the 2 m ring net. These results indicated that raw larval density had to be corrected in order to obtain an accurate estimation of larval density (Sato *et al.* 2008).

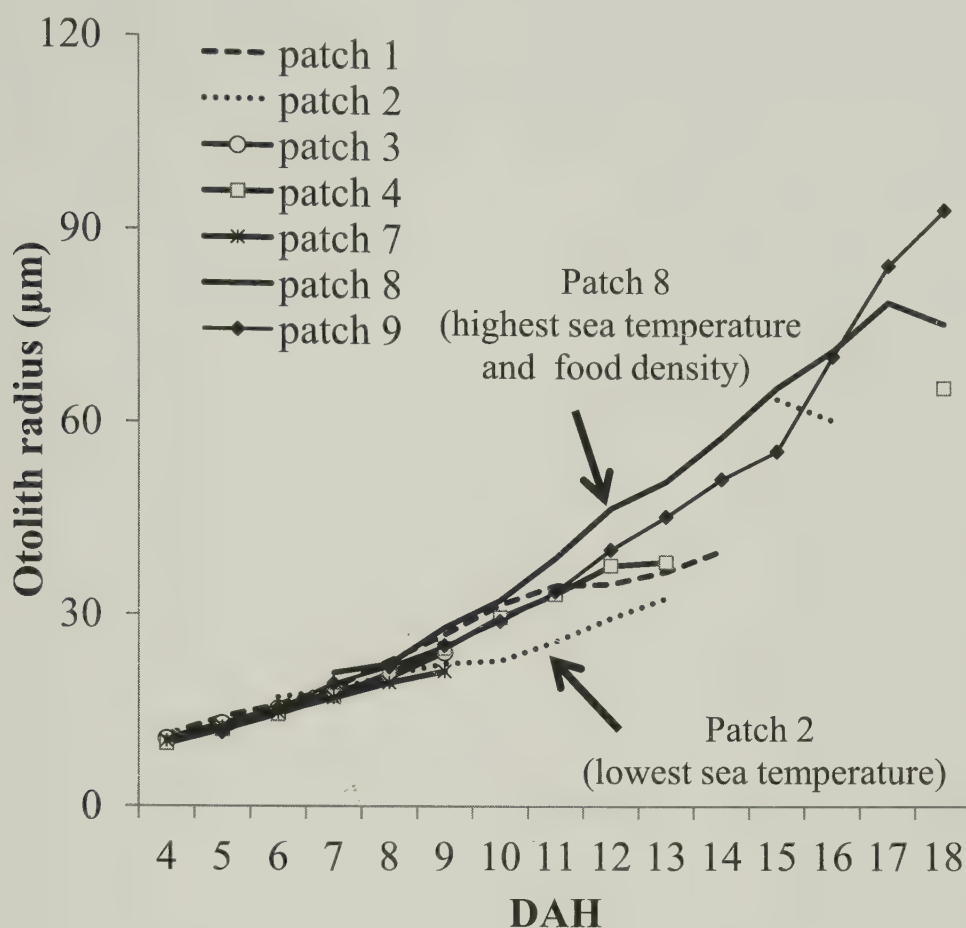


Fig. 5. Comparison of otolith radius (μm) among the patches.

Larval survival and growth

The growth model demonstrated that otolith radius (OR) of larval PBT was positively influenced by sea temperature, stratification parameters and food density, while growth rate of otoliths (GR) was positively influenced by sea temperature and food density (Fig. 5). Concrete regression growth models for both OR and GR were established (Satoh et al. 2013).

References

- Abe O., Takeuchi U., and Ichinokawa M., 2010: bluefin tuna, Pacific Ocean (http://kokushi.job.affrc.go.jp/H22/H22_04.html) accessed available at 2011/6/7
- Davis T. L. O., Jenkins G. P., and Young J. W., 1990: Patterns of horizontal distribution of the larvae of southern bluefin (*Thunnus maccoyii*) and other tuna in the Indian Ocean. *J. Plankton Res.*, **12**, 1295–1314.
- Dower J. F., Pepin P. and Leggett W. C., 2002: Using patch studies to link mesoscale patterns of feeding and growth in larval fish to environmental variability. *Fish. Oceanogr.*, **11**, 219–232.
- Heath M. R., 1992: Field investigations of the early life stages of marine fish. *Adv. Mar. Biol.*, **28**, 1–174.
- MacCall A. D., and Teo S. L. H., 2011: Exploration of a Hybrid Stock Synthesis–VPA Model of Pacific Bluefin Tuna to Distinguish Between Trends in Recruitment and Changes in Fishing Intensity on Young Fish. *ISC/11-1/PBFWG/01*, 1–12.
- Houde E. D., 2009: Recruitment variability. In: Jakobsen T, Fogarty MJ, Megrey BA, Mokness E (eds) *Fish Reproductive Biology*. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 91–71.
- Satoh K., 2010: Horizontal and vertical distribution of

- larvae of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in patches entrained in mesoscale eddies. Mar. Ecol. Prog. Ser., **404**, 227-240.
- Satoh K., Tanaka Y., and Iwahashi M., 2008: Variations in the instantaneous mortality rate between larval patches of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. Fish. Res., **89**, 248-256.
- Satoh K., Tanaka Y., Masujima M., Okazaki M., Kato Y., Shono H., and Suzuki K., 2013: Relationship between the growth and survival of larval Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*. Mar. Biol., **160**, 691-702.
- Uotani I., Saito T., Hiranuma K., and Nishikawa Y., 1990: Feeding habitat of bluefin tuna *Thunnus thynnus* larvae in the western North Pacific Ocean. Nippon Suisan Gakkaishi **56**, 713-717.
- Yamada H., Takagi N., and Nishimura D., 2006: Recruitment abundance index of Pacific bluefin tuna using fisheries data on juveniles. Fish. Sci., **72**, 333-341.

Annual fluctuation in Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) larval catch from 2007 to 2010 in waters surrounding the Ryukyu Archipelago, Japan

Nobuaki SUZUKI^{*1}, Toshiyuki TANABE^{*2}, Kenji NOHARA^{*3}, Wataru DOI^{*3},
Hiroshi ASHIDA^{*1}, Takahiko KAMEDA^{*2}, and Yoshimasa AONUMA^{*2}

Abstract : As the first step towards developing a better understand of the natural reproduction of Pacific bluefin tuna (PBF), research surveys were conducted in the waters surrounding the Ryukyu Archipelago in spring from 2007 to 2010. A total of 11 patches and 1,853 PBF larvae were detected using multiplex PCR genotyping specific for PBF. Marked collections of PBF larvae were taken from sites located between 24° and 26° N along a 126° E line. The majority of patches was found in slightly stagnated current regions along the Kuroshio Current or on the edge of mesoscale eddies. Based on patch distribution and oceanographic conditions, factors affecting larval catch fluctuation and a possible scenario regarding the advection process of PBF larvae were discussed.

Key words : annual fluctuation, multiplex PCR genotyping, oceanographic conditions, Pacific bluefin tuna larvae, patch distribution

Introduction

Pacific bluefin tuna (PBF) have been known to spawn in the waters around the Ryukyu Archipelago during spring and in the Sea of Japan during early summer (Yabe *et al.*, 1966; Ueyanagi, 1969; Okiyama, 1974; Kitagawa *et al.*, 1995; Tanaka *et al.*, 2007). Previous studies have reported annual fluctuations of up to six-times total abundance in year-class strength of PBF recruitment (Yamada *et al.*, 2006). Increased survival of juveniles has been considered a factor leading to dominant year classes, which have markedly contributed to PBF stock abundance, and has likely depended on larger body sizes and higher growth rates during the larval period (Tanaka *et al.*, 2006). Recent radio-buoy tracking of single larval schools (patches) along with continuous sampling of PBF larvae has elucidated the fine- (100s of m to km) to mid-scale (15 to 30 km

range) structure of patches as well as the spatial distribution of larvae entrained in mesoscale eddies (100 to 500 km in diameter). This has allowed the relationship between distribution of larvae and environmental conditions, such as the role of the Kuroshio Current and mesoscale eddies, in the process of PBF recruitment to be examined (Satoh, 2010). On the other hand, reproductive ecology associated with spawning activity and abundance of wild PBF seed surrounding spawning areas remains poorly understood. When the difficulty associated with the sampling of juveniles less than 10 cm in fork length was considered, it was determined that evaluation of larval abundances may be a practical approach to the examination of annual fluctuations in wild PBF reproduction.

Research surveys in the waters surrounding the Ryukyu Archipelago have been conducted by the authors of the present study since 2007 in order to

13年9月5日受理 (Received on September 5, 2013)

^{*1} National Research Institute of Far Seas Fisheries, FRA. 5-7-1, Orido, Shimizu, Shizuoka 424-8633, Japan

^{*2} Research Center for Subtropical Fisheries, Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency (FRA). 148-446, Fukai-Ohta, Ishigaki, Okinawa 907-0451, Japan

^{*3} School of Marine Science and Technology, Tokai University. 3-20-1, Orido, Shimizu, Shizuoka 424-8610, Japan

examine natural reproduction in PBF. The objectives of the present study were (1) to develop a rapid and precise PBF identification procedure using DNA markers, (2) to determine both the larval distributions of PBF and the annual catch fluctuations in the waters surrounding the Ryukyu Archipelago, (3) to contrast larval PBF distributions with oceanographic conditions in order to consider possible factors that affected larval catch fluctuation, and (4) to discuss possible scenarios regarding wild PBF reproduction throughout the advection process of PBF larvae.

Materials and Methods

Larval sampling

Larval samples were collected through 10 minute surface tows using a 2 m diameter ring net with 335 μ m mesh aboard RV "Shunyo-Maru" of the National Research Institute of Far Seas Fisheries from 2007 to 2010. Sampling was undertaken at 22, 21, 22 and 73 sites during the years 2007, 2008, 2009 and 2010, respectively. Sampling sites were originally designed using a grid; however, they were occasionally altered based on conditions at sea during actual sampling. Nets were towed at a speed of approximately 1.5 knots at night (at least one hour after sunset). Collected larvae were sorted on board and immediately preserved in 99.5% ethanol prior to a more comprehensive sorting once they had been transferred to the laboratory. Morphological observations were carried out under a microscope, and the total length of each larva was measured to the nearest 0.1 mm using digital calipers.

Oceanographic observations and data analysis

At each sampling site, sea surface temperature and temperature/salinity vertical profiles were recorded by direct measurement (0 m depth) and the use of a CTD, respectively. Sea surface height (SSH) and geostrophic current data were obtained from FRA-ROMS (<http://fm.dc.affrc.go.jp/fra-roms/index.html>), which was managed by the Fisheries Research Agency, Japan. Data from larval sampling, oceanographic observations and FRA-ROMS were synthesized and graphically illustrated using Generic Mapping Tools (GMT) ver. 4.5.7 (Wessel and Smith,

1998).

DNA extraction, multiplex PCR and sequencing for PBF identification

Tuna-like larvae were sorted and examined using DNA analyses in order to confirm specific identity. Crude DNA was extracted from an eye ball or from muscle tissue taken from the posterior part of larval bodies in order to prevent the extraction of contaminant DNA from the digestive tract using a Gentra Puregene Tissue Kit (QIAGEN). Identification of PBF larvae was achieved through a multiplex PCR genotyping method targeting the ATCO region of mtDNA, which have been reported to be effective in the identification of tuna species (Chow and Inoue, 1993). The tuna-universal primer pair developed by Chow and Inoue (1993) (L8562: 5'-CTT CGA CCA ATT TAT GAG CCC-3' and H9432: 5'-GCC ATA TCG TAG CCC TTT TTG-3') was used in order to amplify the target DNA fragment, which was approximately 870 base pairs (bp) in length. Two forward primers developed in the present study were also used simultaneously in a PCR reaction; L8754PNAL (5'-AGC CGT TCT ATT AAC CTC CT-3') possessed a nucleotide sequence consistent with both PBF and albacore (ALB: *T. alalunga*) and was expected to amplify ca. 680 bp of the targeted DNA fragment, while L8963PNB (5'-TTC CAG TAC TAA TTG TCA TT-3') was identical to the nucleotide sequence of PBF and was expected to amplify ca. 470 bp of the targeted DNA fragment.

PCR amplification was carried out within a 10 μ l reaction mixture containing 2 mM MgCl₂, 0.2 mM of each dNTP, 0.17 μ M of each forward primer, 0.5 μ M of reverse primer, 0.25 units of Taq polymerase (TaKaRa) or AmpliTaq (Applied Biosystems), and template DNA. Cocktails were preheated at 94 °C for 2 min, followed by 30 cycles of amplification (94 °C for 30 s, 52 °C for 30 s and 72 °C for 1 min) with a final extension at 72 °C for 5 min. After thermal cycling, 3 μ l of reaction mixtures were electrophoresed through 1.5% agarose gel and PCR products were visualized using ethidium bromide staining in order to determine ATCO genotypes.

When multiplex genotyping profiles were uncertain due to unexpected electrophoretic patterns, PCR products were subjected to direct

nucleotide sequencing. Amplified products were purified using a PCR Product Pre-Sequencing Kit (USB) and nucleotide sequences were generated on an automated sequencer (ABI Prism 310) using a BigDye Ready Reaction Kit (Applied Biosystems) and a standard cycle sequencing protocol with the H9432 reverse primer. All sequences obtained were identified and collated with DNA databases through BLAST homological search. Supplementally, partial sequences of mtDNA control regions were also determined and subjected to BLAST after PCR amplification using L15924 (5'-AGC TCA GCG CCA GAG CGC CGG TCT TGT AAA-3': Kocher *et al.*, 1993) and H16498 (5'-CCT GAA GTA GGA ACC AGA TG-3': Meyer *et al.*, 1990).

Results

Efficiency of multiplex PCR genotyping

In order to confirm the efficiency of the three forward and one reverse primer used, four adult

Thunnus spp. specimens preserved in the National Research Institute of Far Seas Fisheries were examined. Three- and two-banding patterns were observed in PBF and ALB, respectively, which indicated that amplified DNA fragments of expected size were present, while a single 870 bp fragment was observed in the other species examined (Fig. 1A). In order to examine intraspecific variation, 48 adult PBF specimens were analyzed. With the exception of one specimen that showed no PCR amplification, all specimens examined were correctly identified based on their three-banded genotypic profile. These results indicated that no intraspecific variation was present (Fig. 1B).

Identification of wild-caught larvae

Multiplex PCR genotyping was carried out using wild-caught tuna-like larvae subsequent to morphological identification based primarily on melanophore distribution on the body surface. Although a few larvae possessed unexpected

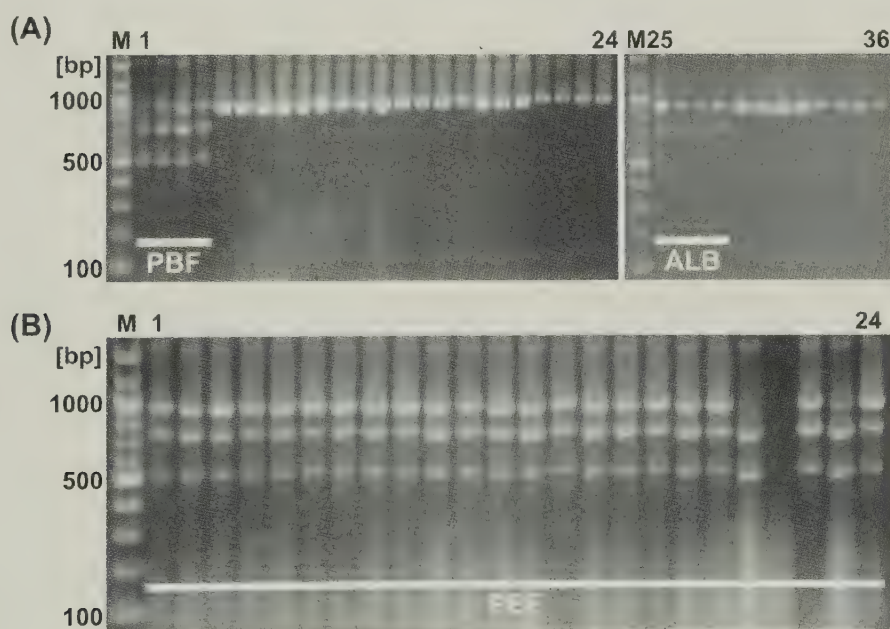


Fig. 1. Electrophoretic images of multiplex PCR products for *Thunnus* species. (A) Comparison among eight species including two known mitochondrial types of bigeye (*T. obesus*) identified by Chow *et al.* (2000). Lanes 1-4: Pacific bluefin, 5-8: Atlantic bluefin, 9-12: southern bluefin, 13-16: α -type bigeye, 17-20: β -type bigeye, 21-24: yellowfin, 25-28: albacore, 29-32: long tail, and 33-36: blackfin tunas. (B) Determination of intraspecific variation within Pacific bluefin tuna. In both images, lanes marked "M" include molecular size markers with sizes given along the left margin.

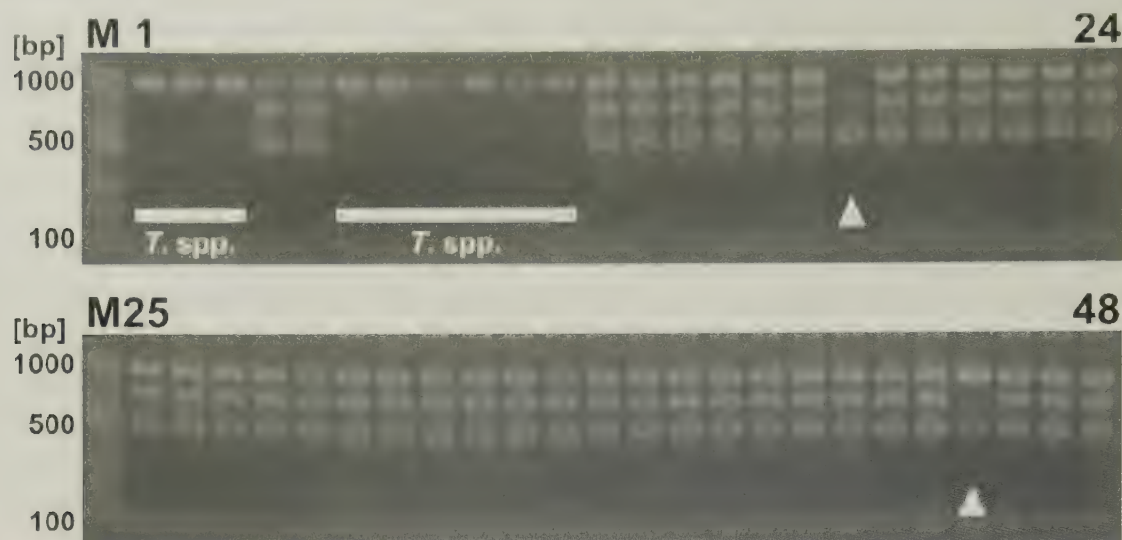


Fig. 2. Electrophoretic images of multiplex PCR products of 48 wild-caught tuna-like larvae specimens. Lanes 1-3 and 6-11, which indicate a single band, represent *Thunnus* spp. excluding Pacific bluefin. Triangles indicate variant genotypes of Pacific bluefin. Lanes marked "M" include molecular size markers with sizes given along the left margin.

electrophoretic profiles, their identities were confirmed through direct sequencing for mtDNA ATCO and control regions (Fig. 2). A total of 1,853 PBF larvae were identified based on four years worth of surveys along with 11 patches, which were defined as groups of more than ten larvae collected from a single sampling site (Table 1). A large amount of PBF larvae were collected from nine sites (St1017-1~St1018-5) on the 16th and 17th June 2010. These larvae were assigned to a single patch as they were sampled continuously using radio-buoy tracking. The total catch of PBF larvae associated with this patch consisted of 839 individuals, an average of 93.2 ± 84.4 (mean $\pm$ SD) individuals per net.

Distribution of larval patches

Five patches were observed during both 2007 and 2009, one patch was observed during 2010, and no patches were observed during 2008. Patches identified in the present study were concentrated within an area located between Okinawa and Miyako islands, and collections of PBF larvae were obtained between 24 and 26° N along a 126° E line (Table 1, Fig. 3). Horizontal plots of patches based on geostrophic currents and SSH data both indicated that the majority of patches were located in slightly stagnated current regions along the Kuroshio

Current or on the edge of mesoscale eddies (Figs. 4-7).

Discussion

In the present study, simple, rapid and precise identification of PBF larvae from among more than 1,800 tuna-like larvae was made possible using multiplex PCR genotyping. Two new primers, L8754PNAL (for PBF and ALB) and L8963PNB (for PBF), were designed to attach specific single nucleotide polymorphisms on their 3' ends, which allowed them to successfully prevent nonspecific amplification. Intraspecific variation in melanophores on larval body surfaces, which are used as a diagnostic characteristic for tuna larvae, and samples damaged by net towing can make species identification more difficult. The multiplex PCR genotyping method reported in the present study allowed the identity of PBF larvae to be confirmed using samples of varying quality and aided in the determination of wild PBF larvae abundances. This method was also capable of distinguishing PBF juveniles from those of other tuna species when morphological analysis could not. Furthermore, this multiplex PCR genotyping method could be combined with a bufferless electrophoresis system in

Table 1. Summary information regarding sampling trials and catches of Pacific bluefin (PBF) tuna larvae from 2007 to 2010. Values in bold indicate patch structures

Date	Site	Latitude (°N)	Longitude (°E)	SST (°C)	No of PBF	Date	Site	Latitude (°N)	Longitude (°E)	SST (°C)	No of PBF
2007/6/5	ST-2	24.00	123.50	28.4	0	2010/05/25	St1001-1	22.00	128.01	28.4	0
2007/6/6	ST-3	23.00	123.50	29.2	0		St1001-2	22.16	127.83	27.4	0
2007/6/7	ST-7	22.00	124.50	29.0	2		St1001-3	22.35	127.68	26.7	0
2007/6/8	ST-9	24.00	124.50	28.8	0	2010/05/26	St1002-1	22.99	126.99	26.7	0
2007/6/9	ST-13	25.00	126.00	25.6	225		St1002-2	23.16	126.82	26.8	0
2007/6/10	ST-13	25.00	126.00	27.1	2		St1002-3	23.34	126.58	26.3	0
2007/6/11	ST-14	24.00	126.00	27.1	0	2010/05/27	St1003-1	24.01	126.00	25.9	0
2007/6/12	ST-15	23.00	126.00	28.6	0		St1003-2	24.18	125.84	26.1	0
2007/6/13	ST-19	22.00	127.00	28.5	0		St1003-3	24.32	125.66	26.1	0
2007/6/14	ST-21	24.00	127.00	26.7	23	2010/05/28	St1004-1	25.00	125.00	26.2	0
2007/6/15	ST-23	26.00	127.00	26.2	0		St1004-2	25.17	124.83	27.4	0
2007/6/16	ST-24	27.00	127.00	28.1	15		St1004-3	25.35	124.67	27.6	0
2007/6/17	ST-25	29.00	128.83	26.8	16	2010/05/29	St1005-1	24.84	124.17	27.1	8
2007/6/18	ST-27	27.00	128.83	25.0	0		St1005-2	25.01	124.00	27.3	0
2007/6/19	ST-29	25.00	128.83	28.0	0		St1005-3	25.21	123.84	27.3	0
2007/6/20	ST-38	25.00	130.00	27.7	9	2010/05/30	St1006-1	25.33	125.67	26.9	0
2007/6/21	ST-40	27.00	130.00	25.7	0		St1006-2	25.17	125.83	25.6	0
2007/6/22	ST-48	28.36	127.46	28.3	4		St1006-3	24.98	126.00	25.5	0
2007/6/23	ST-49	27.36	127.46	27.4	2	2010/05/31	St1007-1	24.00	127.02	26.1	0
2007/6/24	ST-50	27.20	126.63	28.2	2		St1007-2	23.83	127.17	26.2	0
2007/6/25	ST-51	25.50	126.50	27.6	48		St1007-3	23.63	127.35	26.2	0
2007/6/26	ST-52	24.50	126.50	27.2	0	2010/06/01	St1008-1	24.99	127.17	25.7	2
							St1008-2	25.16	127.00	25.6	0
2008/6/11	ST-05	21.67	125.01	29.4	0		St1008-3	25.33	126.80	26.4	0
2008/6/12	ST-04	23.00	125.00	28.1	0	2010/06/02	St1009-1	25.68	126.33	26.5	8
2008/6/13	ST-03	23.84	124.51	29.1	0		St1009-2	25.84	126.18	25.8	0
2008/6/14	ST-06	23.50	126.01	28.5	0		St1009-3	26.02	126.00	27.2	0
2008/6/15	ST-07	24.93	126.08	27.6	1	2010/06/03	St1010-1	26.00	127.00	26.5	0
2008/6/16	ST-08	25.01	125.04	27.7	2		St1010-2	26.17	126.83	26.3	1
2008/6/17	ST-24	25.49	125.96	28.1	1		St1010-3	26.35	126.66	26.1	0
2008/6/18	ST-25	25.09	125.93	28.0	2	2010/06/04	St1011-1	26.68	126.34	27.6	0
2008/6/19	ST-09	25.09	124.01	28.7	4		St1011-2	26.86	126.19	27.4	1
2008/6/20	ST-12	26.42	126.51	28.4	0		St1011-3	27.05	126.03	25.2	0
2008/6/21	ST-13	27.01	126.96	28.4	0	2010/06/05	St1012-1	27.68	127.32	27.1	0
2008/6/22	ST-14	27.68	127.26	28.4	2	2010/06/15	St1016-1	24.65	126.34	26.8	2
2008/6/23	ST-15	28.34	127.75	27.9	0		St1016-2	24.84	126.17	26.7	0
2008/6/24	ST-16	29.01	128.17	27.8	0		St1016-3	25.04	126.01	26.6	0
2008/6/25	ST-17	29.25	128.67	27.8	0	2010/06/16	St1017-1	24.95	125.99	26.7	122*
2008/6/26	ST-26	30.33	128.92	25.4	0		St1017-2	24.87	125.99	26.8	87*
2008/6/27	ST-27	30.33	129.85	26.9	0		St1017-3	24.91	126.05	26.8	275*
2008/6/28	ST-28	29.84	131.35	27.5	0		St1017-3-2	24.91	125.95	26.8	33*

Table 1. Continued

Date	Site	Latitude (°N)	Longitude (°E)	SST (°C)	No of PBF	Date	Site	Latitude (°N)	Longitude (°E)	SST (°C)	No of PBF
2008/6/29	ST-19	27.01	129.99	28.3	0	2010/06/17	St1018-1	25.04	126.05	26.8	16*
2008/6/30	ST-30	27.76	126.51	28.0	0		St1018-2	25.08	126.06	26.9	106*
2008/7/1	ST-31	27.01	125.89	28.9	0		St1018-3	25.04	126.10	26.9	9*
							St1018-4	25.00	126.06	26.9	40*
2009/5/31	ST-16	22.00	125.00	26.6	0		St1018-5	25.04	126.02	26.7	151*
2009/6/1	ST-17	23.50	125.00	27.0	3	2010/06/18	St1019-1	24.51	123.50	26.5	1
2009/6/2	ST-19	26.08	125.00	26.8	7		St1019-2	24.67	123.34	26.8	5
2009/6/3	ST-20	25.25	125.00	26.3	7		St1019-3	24.84	123.16	28.2	0
2009/6/4	ST-10	24.50	125.00	27.0	9	2010/06/19	St1020-1	24.67	122.68	28.6	2
2009/6/5	ST-15	23.50	123.50	28.0	6		St1020-2	24.76	122.84	28.5	2
2009/6/6	ST-21	25.17	124.00	26.7	6		St1020-3	24.76	123.01	27.8	0
2009/6/7	ST-8	24.00	126.00	27.5	48	2010/06/20	St1021-1	24.67	124.34	26.9	8
2009/6/8	ST-7	25.08	126.08	26.9	24		St1021-2	24.83	124.17	27.1	1
2009/6/9	ST-22	23.33	126.15	27.1	1		St1021-3	25.02	124.03	26.8	2
2009/6/10	ST-23	26.15	126.00	27.2	1	2010/06/21	St1022-1	26.17	126.34	27.2	2
2009/6/11	ST-4	28.50	127.00	24.5	0		St1022-2	26.34	126.17	28.0	0
2009/6/17	ST-8a	24.00	126.00	28.1	0		St1022-3	26.54	126.05	27.7	3
2009/6/18	ST-7a	25.08	126.08	27.3	125	2010/06/22	St1023-1	28.33	128.17	26.2	0
2009/6/19	ST-20a	25.25	125.00	29.4	7		St1023-2	28.50	128.01	27.3	0
2009/6/20	ST-21a	25.17	124.00	29.4	5		St1023-3	28.70	127.87	27.4	0
2009/6/21	ST-23a	26.15	126.00	27.7	324	2010/06/23	St1024-1	28.01	127.51	27.0	2
2009/6/22	ST-3a	27.00	127.00	28.2	18		St1024-2	28.17	127.35	27.6	0
2009/6/23	ST-2a	25.50	127.00	27.8	7		St1024-3	28.33	127.21	28.2	0
2009/6/24	ST-10a	24.50	124.00	28.6	4	2010/06/24	St1025-1	28.18	127.33	27.6	0
2009/6/25	ST-24a	26.42	126.00	28.4	0		St1025-2	28.34	127.50	27.5	0
2009/6/26	ST-25a	28.00	127.00	27.9	2		St1025-3	28.51	127.59	27.4	0
						2010/06/25	St1026-1	28.51	127.50	27.4	0
							St1026-2	28.68	127.67	26.9	0
							St1026-3	28.85	127.76	27.3	0
						2010/06/26	St1027-1	29.18	128.18	27.6	0
							St1027-2	29.26	128.44	27.6	0
							St1027-3	29.34	128.36	27.6	0

SST: Sea surface temperature

* A total of 839 PBF larvae were assigned to a single patch as continuous sampling using radio-buoy tracking was employed.

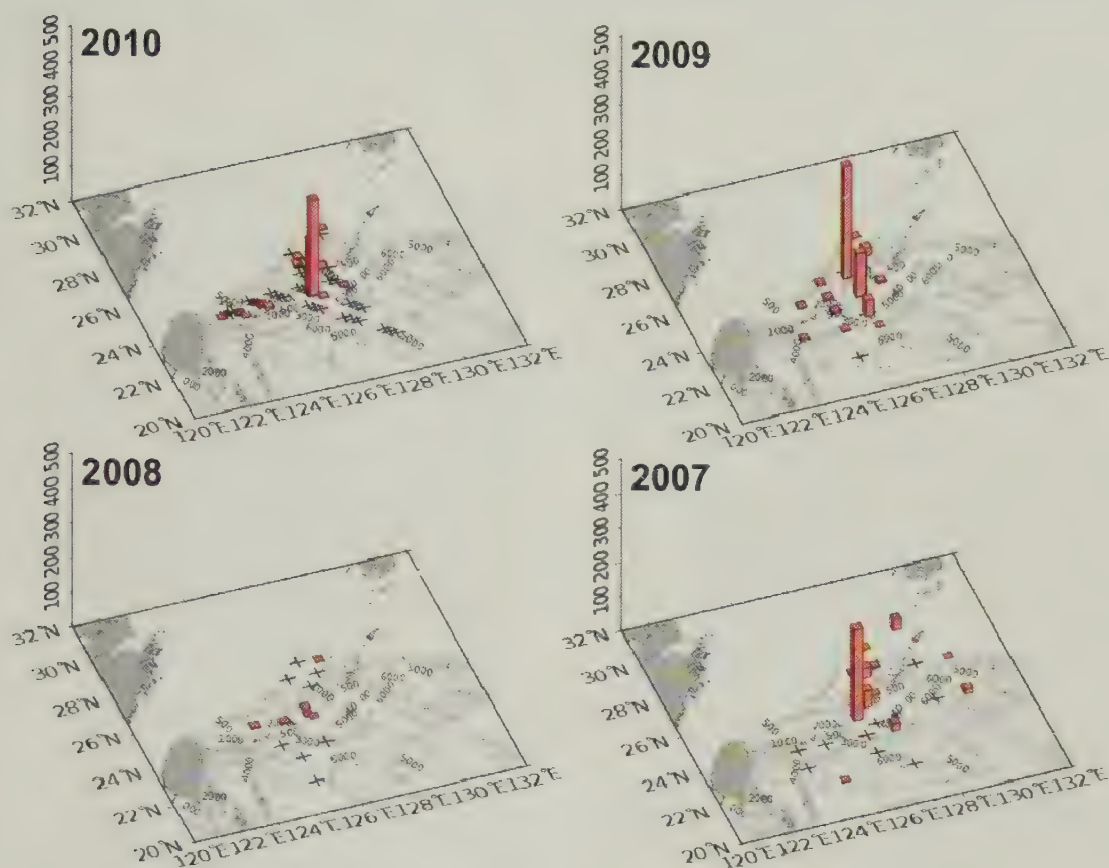


Fig. 3. Horizontal plots of annual catches of Pacific bluefin larvae from 2007 to 2010. Red bars indicate numbers of larvae and “+” indicates that no catch was obtained at a given site.

order to analyze PBF larvae and juveniles on board research vessels and could be applied to several fields of research regarding PBF ecology.

Oceanographic conditions throughout the duration of surveys conducted in 2008 and 2010 were characterized by high sea-levels in a region south of Ishigaki and Miyako islands, where a mesoscale anticyclonic (clockwise) eddy appeared to produce southward or southeastward currents between Okinawa and Miyako islands (Figs. 5 and 7). These conditions may have caused less detection of larval patches during 2008 and 2010 in this region. Patches identified during 2007 and 2009 were observed within a larger area in early and late June (Figs. 4 and 6). Patch distribution during these two years suggested that advection into the Kuroshio Current from the region south of the spawning area occurred via the waters between Okinawa and Miyako islands. Satoh (2010) suggested that the westward propagation of mesoscale eddies played an important

role as a means by which larvae and early juveniles with poor swimming ability could approach the upstream Kuroshio Current. Results of the present study from 2007 and 2009 may have indicated an alternative northward advection process that resulted in the early migration of PBF larvae into the Kuroshio Current. Substantial collection of PBF larvae during 2007 and 2009, contrasted with the relatively few samples collected during 2008 and the single patch identified during 2010, might be also influenced by bottom topography and its surrounding local currents. Several patches existed along the southern edge of a shallow reef (< 100 m depth) located on the eastern region of Miyako Island where the bottom slopes dropped rapidly to a depth of 1,000 m (Fig. 8). When northward currents meet with the reef, upwelling and/or small but complicated local eddies may have been generated, producing complex conditions within the local environment. Raw current data collected using an

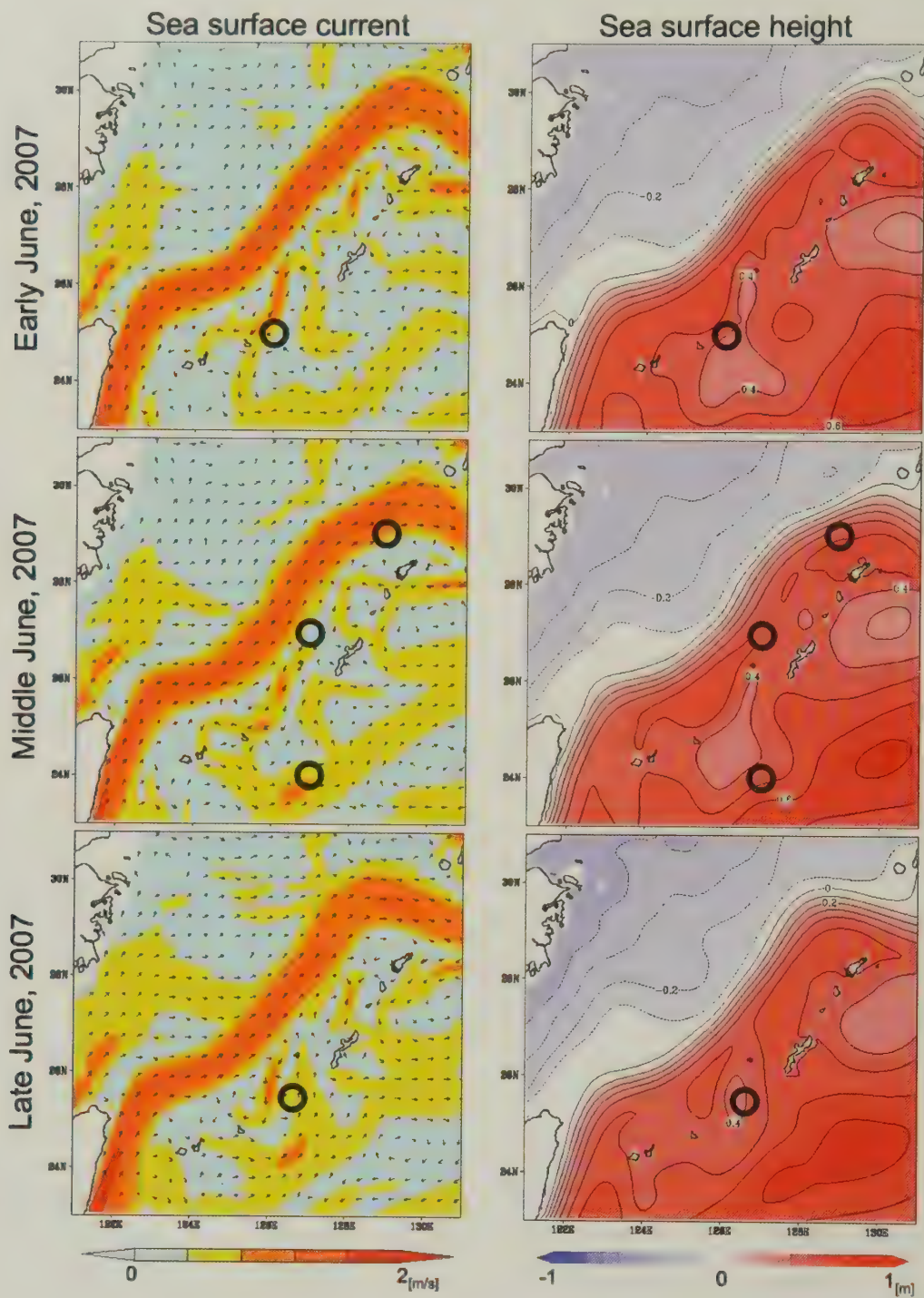


Fig. 4. Contour plots of sea surface geostrophic currents and sea surface heights with distribution of larval patches of Pacific bluefin tuna during June 2007. Open circles indicate larval patches.

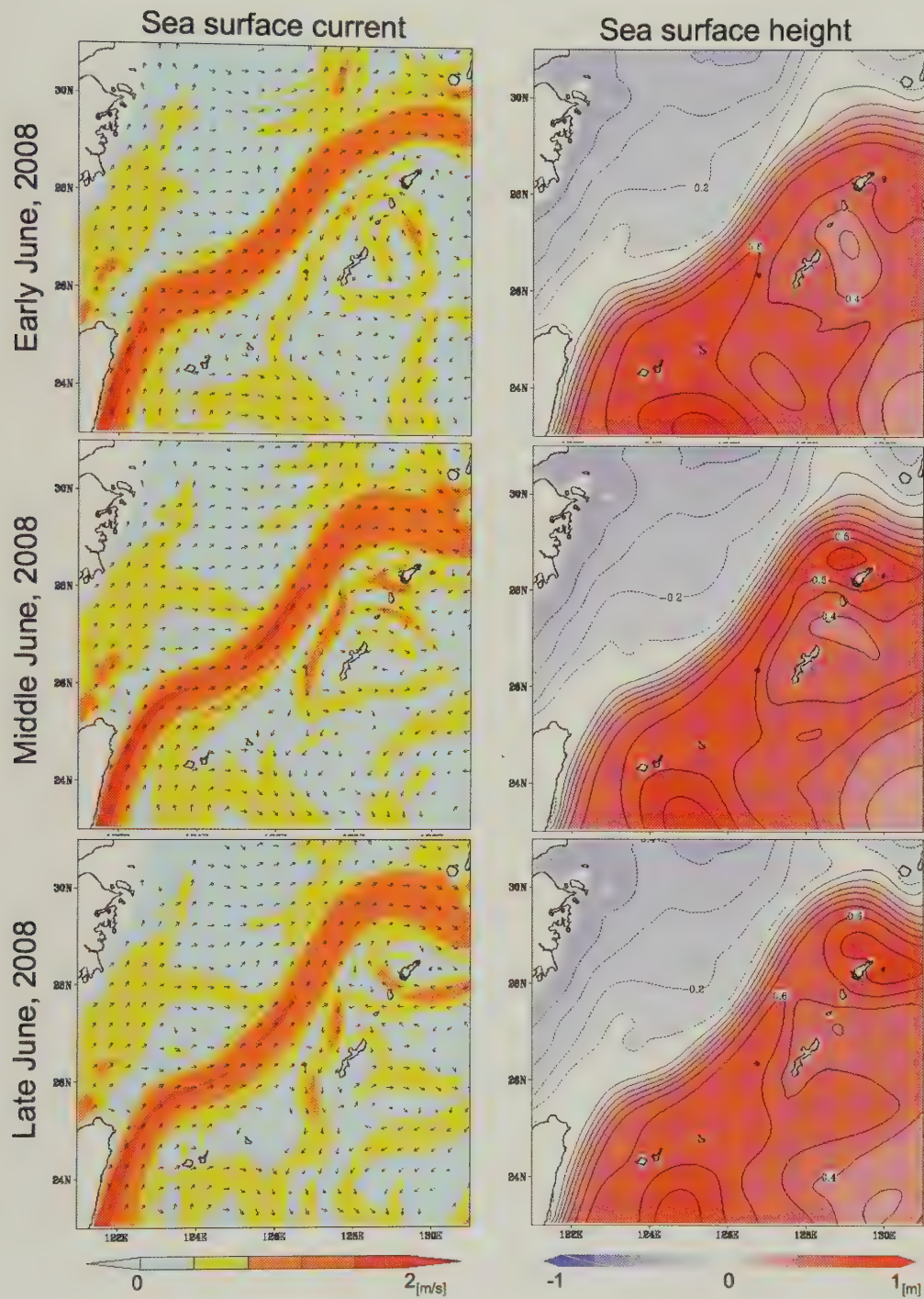


Fig. 5. Contour plots of sea surface geostrophic currents and sea surface heights during June 2008.

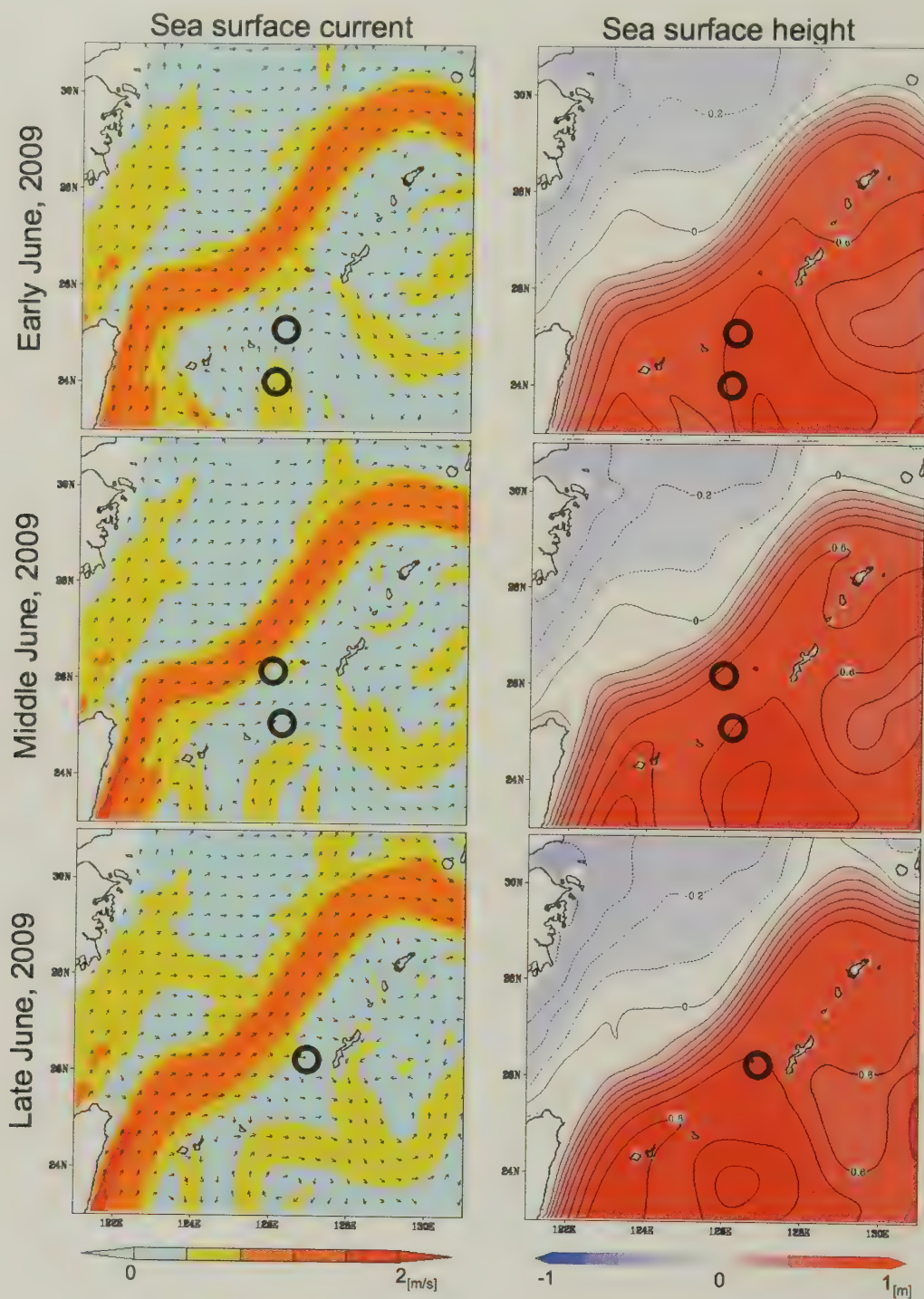


Fig. 6. Contour plots of sea surface geostrophic currents and sea surface heights with distribution of larval patches of Pacific bluefin tuna during June 2009. Open circles indicate larval patches.

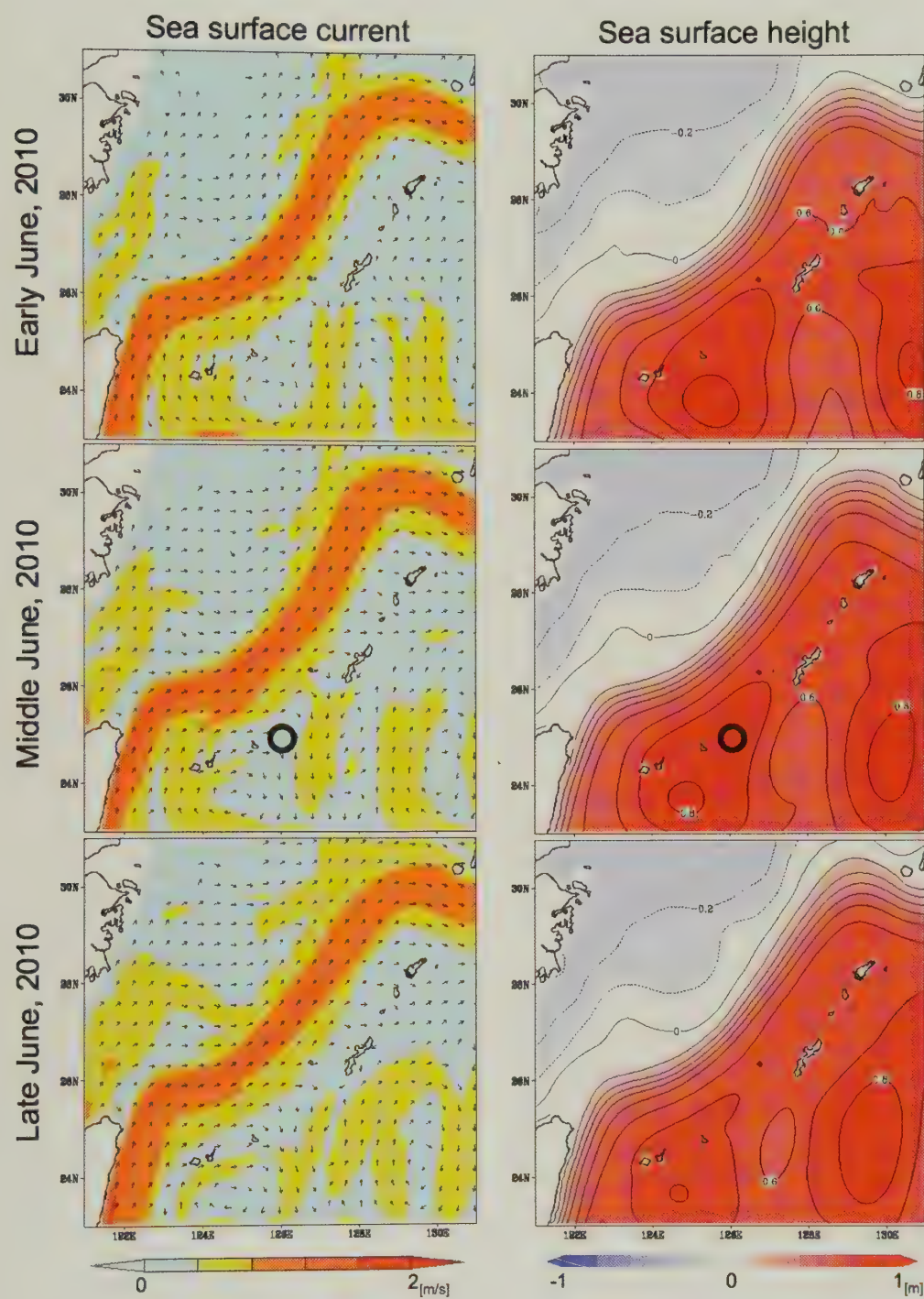


Fig. 7. Contour plots of sea surface geostrophic currents and sea surface heights with distribution of larval patches of Pacific bluefin tuna during June 2010. Open circles indicate larval patches.

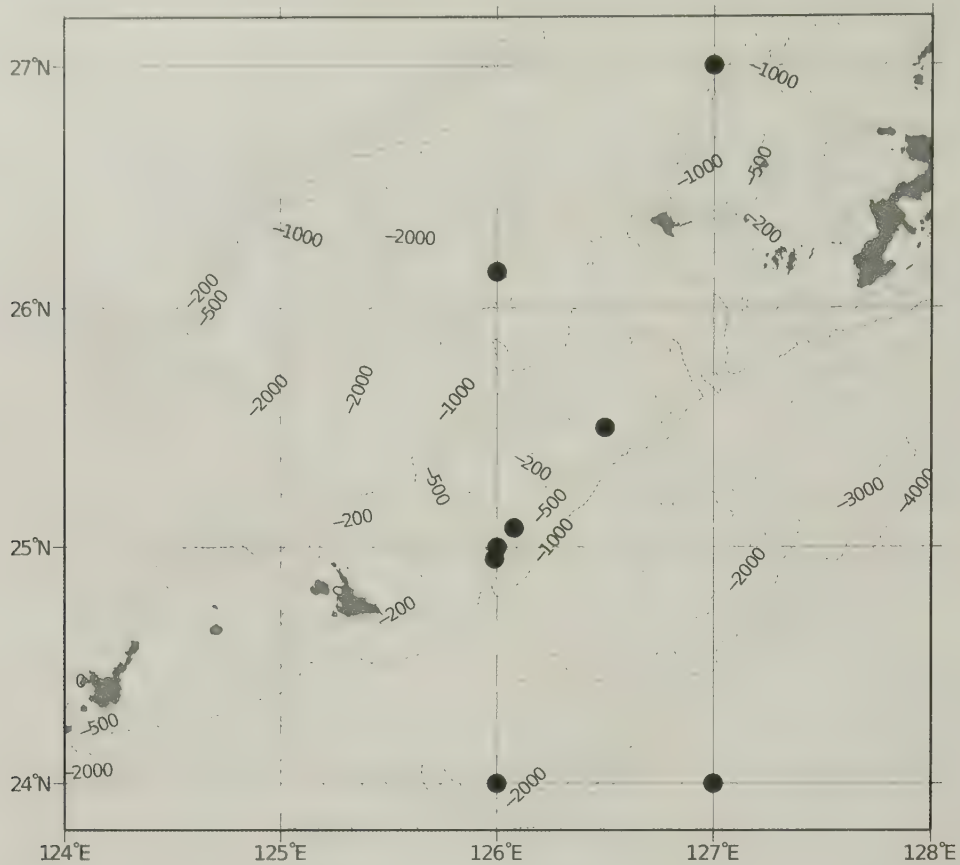


Fig. 8. Bathymetry and distribution of larval patches of Pacific bluefin tuna within the region between Miyako and Okinawa islands. Solid circles indicate larval patches.

acoustic Doppler current profiler (ADCP) demonstrated this complex structure as well as the presence of an eddy within the region (data not shown). Further study should be undertaken in order to accumulate CTD data and ADCP profiles as well as to illustrate environmental conditions that might explain the relationships between occurrence of larvae and various oceanographic factors. Furthermore, examination of larval retention by local eddies within the region examined in the present study may allow more accurate sampling methods to be designed for PBF larvae. The region examined in the present study would also serve as an ideal location for monitoring the northward advection of PBF larvae.

In the present study, horizontal distribution and annual fluctuation in PBF larval catch as well as oceanographic conditions during survey periods were determined, and a possible scenario regarding the advection process of PBF larvae was presented.

Bakun (2006, 2012) summarized potential scenario of reproductive scheme of bluefin tunas and discussed the relationships between reproductive success and spawning strategy. Both in the Gulf of Mexico and in the western Mediterranean, primary but detailed analyses combining distributions of Atlantic bluefin tuna larvae with the environmental factors have been conducted (Teo *et al.*, 2007; Alemany *et al.*, 2012). In order to better understand reproduction in wild PBF, further study regarding PBF larvae is required following these previous studies.

Acknowledgements

We would like to thank the captain and crew of RV "Shunyo-Mar" for their assistance in sample collection. We would also like to thank M. Mukai and K. Nema for sorting larval samples; M. Michibayashi, H. Hasegawa and N. Ishizaki for technical assistance during DNA analysis; and our colleagues at the

Seikai National Fisheries Research Institute, the National Research Institute of Far Seas Fisheries and the National Research Institute of Fisheries Science for their valuable comments. This study was financially supported in part by the Fisheries Research Agency of Japan.

References

- Alemaný F., Quintanilla L., Velez-Belchí P., García A., Cortés D., Rodríguez J.M., Fernández de Puelles M.L., González-Pola C., and López-Jurado J.L., 2010: Characterization of the spawning habitat of Atlantic bluefin tuna and related species in the Balearic Sea (western Mediterranean). *Prog. Oceanogr.*, **86**, 21–38.
- Bakun A., 2006: Fronts and eddies as key structures in the habitat of marine fish larvae: opportunity, adaptive response and competitive advantage. *Scientia Marina*, **70S2**, 105–122.
- Bakun A., 2012: Ocean eddies, predator pits and bluefin tuna: implications of an inferred ‘low risk-limited payoff’ reproductive scheme of a (former) archetypical top predator. *Fish and Fisheries*, DOI: 10.1111/faf.12002.
- Chow S., and Inoue S., 1993: Intra- and interspecific restriction fragment length polymorphism in mitochondrial genes of *Thunnus* tuna species. *Bull. Natl. Res. Ins. Far Seas Fish.*, **30**, 207–225.
- Chow S., Okamoto H., Miyabe N., Hiramatsu K., and Barut N., 2000: Genetic divergence between Atlantic and Indo-Pacific stocks of bigeye tuna (*Thunnus obesus*) and admixture around South Africa. *Mol. Ecol.*, **9**, 221–227.
- Kitagawa Y., Nishikawa Y., Kubota T., and Okiyama M., 1995: Distribution of ichthyoplanktons in the Japan Sea during summer, 1984, with special reference to scombroid fishes. *Bull. Jpn. Soc. Fish. Oceanogr.*, **59**, 107–114.
- Kocher T. D., Conroy J. A., McKaye K. R., and Stauffer J. R., 1993: Similar morphologies of cichlid fish in Lakes Tanganyika and Malawi are due to convergence. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **2**, 158–165.
- Meyer A., Kocher T. D., Basasibwaki P., and Wilson A. C., 1990: Monophyletic origin of Lake Victoria cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. *Nature*, **347**, 550–553.
- Okiyama M., 1974: Occurrence of the postlarvae of bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, in the Japan Sea. *Bull. Jap. Sea Reg. Fish. Res. Lab.*, **25**, 89–97.
- Satoh K., 2010: Horizontal and vertical distribution of larvae of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in patches entrained in mesoscale eddies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **404**, 227–240.
- Tanaka Y., Mohri M., and Yamada H., 2007: Distribution, growth and hatch date of juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the coastal area of the Sea of Japan. *Fish. Sci.*, **73**, 534–542.
- Tanaka Y., Satoh K., Iwahashi M., and Yamada H., 2006: Growth-dependent recruitment of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **319**, 225–235.
- Teo S. L. H., Boustany A. M., and Block B. A., 2007: Oceanographic preferences of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, on their Gulf of Mexico breeding grounds. *Mar. Biol.*, **152**, 1105–1119.
- Ueyanagi S., 1969: Observations on the distribution of tuna larvae in the Indo-Pacific Ocean with emphasis on the delineation of the spawning areas of albacore, *Thunnus alalunga*. *Bull. Far Seas Fish. Res. Lab.*, **2**, 177–256.
- Wessel P. and Smith W. H. F., 1998: New, improved version of Generic Mapping Tools released. *EOS Trans. AGU*, **79**, 579.
- Yabe H., Ueyanagi S., and Watanabe H., 1966: Studies on the early life history of bluefin tuna *Thunnus thynnus* and on the larvae of the southern bluefin tuna *T. maccoyii*. *Rep. Nankai Reg. Fish. Res. Lab.*, **23**, 95–129.
- Yamada H., Takagi N., and Nishimura D., 2006: Recruitment abundance index of Pacific bluefin tuna using fisheries data on juveniles. *Fish. Sci.*, **72**, 333–341.

Climate change impacts on spawning grounds of Atlantic tunas in the northern Gulf of Mexico

Barbara MUHLING^{*1,2}, Yanyun LIU^{*1}, Sang-Ki LEE^{*1}, John LAMKIN^{*3}, and Walter INGRAM^{*4}

Introduction

Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) is a wide-ranging species found throughout the Atlantic Ocean. However, within the western North Atlantic, significant spawning activity has not been recorded outside the Gulf of Mexico. While bluefin tuna can tolerate colder waters than other tunas, they are adversely affected by warm waters. Conditions within the Gulf of Mexico during the spring spawning season often approach the upper limits of tolerance for this species. A predictive habitat model for bluefin tuna larvae in the Gulf of Mexico has been produced using historical data (Muhling *et al.*, 2010). Larvae were primarily collected between early May and mid June, within a defined temperature range, suggesting a limited spawning window. Because of these preferences, and their reproductive biology, bluefin tuna populations show high vulnerability to the projected warming effects of climate change. In contrast, although yellowfin tuna (*T. albacares*), blackfin tuna (*T. atlanticus*) and skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) also initiate spawning in the Gulf of Mexico during spring, these species increase their spawning activity with water temperature, without a defined upper limit.

Methodology

As a first step in determining climate change impacts on tuna spawning in the Gulf of Mexico during spring, we applied future predictions of water temperature at the surface and at 200m depth to existing spawning habitat models. Separate models were constructed for bluefin tuna, skipjack tuna and yellowfin/blackfin tuna, using artificial neural

networks. The latter two species were combined, as they are not possible to distinguish visually at early larval stages. Temperature predictions were sourced from a dynamically downscaled climate model for the Gulf of Mexico and Caribbean, projected under CO₂ emission scenario SRES A1B (720 ppm stabilization). Potential temporal and spatial changes in spawning habitat for bluefin, yellowfin/blackfin and skipjack tunas in the Gulf of Mexico were then quantified for the middle and end of the 21st century, for the months of March, April, May and June.

Results and Discussion

Spring spawning grounds for bluefin tuna were predicted to increase slightly in March, and decrease through April, May and June (Fig. 1). By 2090, there was predicted to be little suitable spawning habitat for bluefin tuna in the Gulf of Mexico. In contrast, spawning grounds of tropical tunas were predicted to increase (Fig. 2).

Mean monthly probabilities of occurrence for both yellowfin/blackfin tuna and skipjack tuna in the Gulf of Mexico were predicted to increase approximately 10-20% during all spring months, between the late 20th and 21st centuries (Fig. 3). Mean probabilities of occurrence for bluefin tuna larvae were not predicted to change markedly between the late 20th and 21st centuries during March and April, however losses in spawning habitat were predicted for May and June.

This work has significant implications for the future management of highly migratory tunas in the western Atlantic Ocean. Tropical tuna species may be favorably affected by warming water temperatures in the Gulf of Mexico, and may be able

2013年9月5日受理 (Received on September 5, 2013)

^{*1} Cooperative Institute for Marine and Atmospheric Studies, University of Miami, 4600 Rickenbacker Causeway, Miami, FL, USA, 33149

^{*2} NOAA National Marine Fisheries Service, Southeast Fisheries Science Center, 75 Virginia Beach Drive, Miami, FL, USA, 33149

^{*3} NOAA Atlantic Oceanographic and Meteorological Laboratories, 4301 Rickenbacker Causeway, Miami, FL, USA, 33149

^{*4} NOAA Southeast Fisheries Science Center, 151 Watts Ave, Pascagoula, MS, USA, 39567

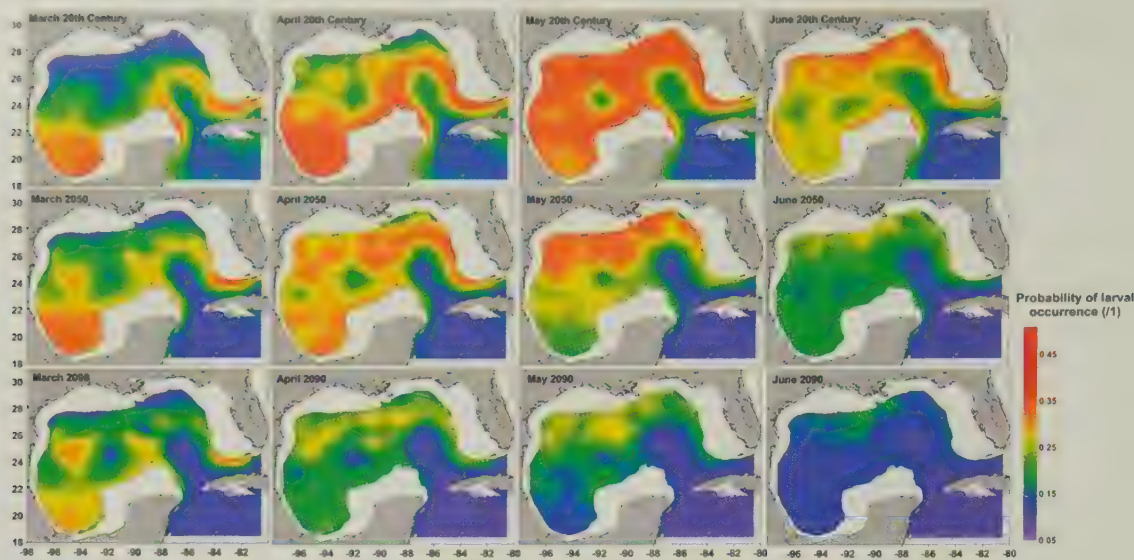


Fig. 1. Prediction of the extent of habitat suitable for the occurrence of larval bluefin tuna in the Gulf of Mexico under late 20th century conditions (1971 to 1999), and projected conditions in 2050, and 2090, for the months of March, April, May and June. The probability of occurrence (%) is shown, based on output from the artificial neural network model using weighted mean temperature values.

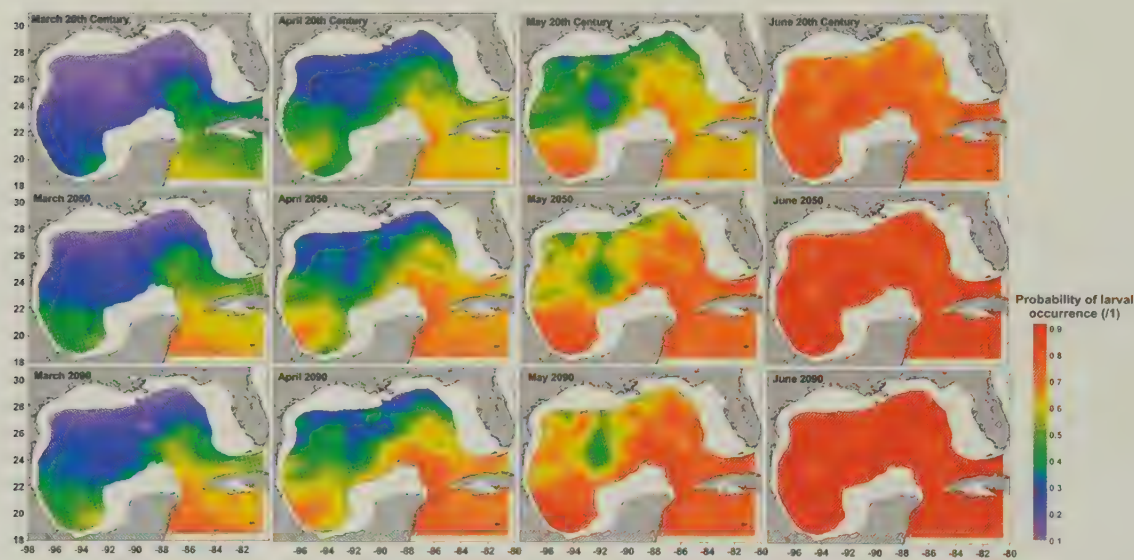


Fig. 2. Prediction of the extent of habitat suitable for the occurrence of larval yellowfin/blackfin tuna in the Gulf of Mexico under late 20th century conditions (1971 to 1999), and projected conditions in 2050, and 2090, for the months of March, April, May and June. The probability of occurrence (%) is shown, based on output from the artificial neural network model using weighted mean temperature values.

to commence spawning earlier in the year. In contrast, the spawning season of bluefin tuna may be shifted or truncated, largely due to the physiological tolerances of adult fish. Bluefin tuna migrate long distances to reach their Gulf of Mexico spawning grounds, and their ability to adapt spawning

strategies to a changing environment remains largely unknown. The potential impacts of climate change may thus be significant and unfavorable for this species.

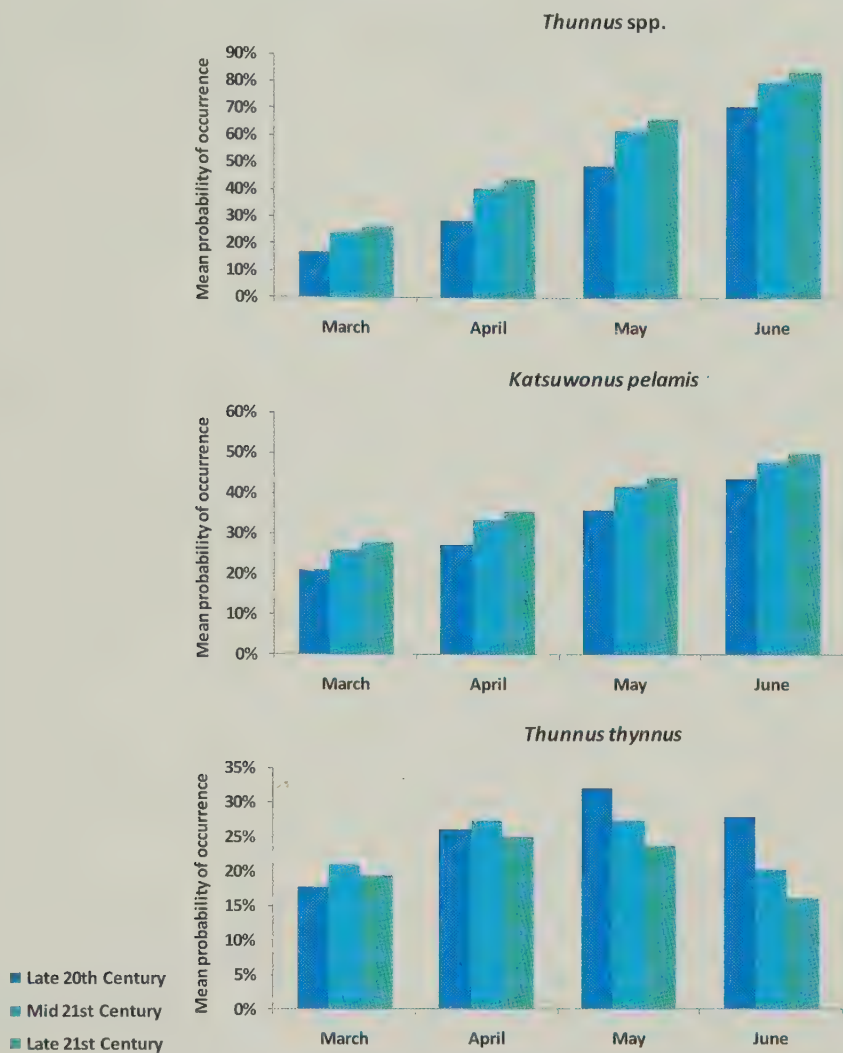


Fig. 3. Mean probability of occurrence by month for larval yellowfin/blackfin tuna (top), skipjack tuna (middle) and bluefin tuna (bottom) during the late 20th century, mid 21st century, and end 21st century. Probabilities are shown for the months of March, April, May and June.

References

Muhling, B.A., Lamkin, J.T., Roffer, M.A. 2010: Predicting the occurrence of Atlantic bluefin

tuna (*Thunnus thynnus*) larvae in the northern Gulf of Mexico: Building a classification model from archival data. Fish. Oceanogr. 19, 526–539.

What can stable isotope studies tell us about early life trophic pathways of top predator larvae: Case study of bullet tuna larvae

Alberto GARCIA^{*1}, Raúl LAIZ-CARRION^{*1}, José M. QUINTANILLA^{*1},
Asvin PEREZ-TORRES^{*2}, and Francisco ALEMANY^{*2}

Abstract : Naturally occurring stable isotopes are commonly used to elucidate the origins of organic matter and food web complexity within marine communities. Given the utility of these natural dietary tracers, few studies have attempted to use stable isotopes to examine the early life feeding ecology of pelagic fishes in offshore marine ecosystems (Bode *et al*, 2007; Pepin and Dower, 2007). Food web tracers, such as the stable isotopes of carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) were used to determine the extent to which fish larvae rely on different components of the ecosystem. Stable nitrogen isotopes becomes enriched at successive trophic levels, resulting from the greater concentration of the light isotope (^{14}N) than the heavy isotope, leaving the animal enriched in ^{15}N relative to its food source. Stable carbon isotopes can indicate feeding and carbon flow because there is limited fractionation from prey to predator, and different energy sources provide distinctive $\delta^{13}\text{C}$ values.

The Balearic Sea (NW Mediterranean) is characterized by the encounter of waters masses

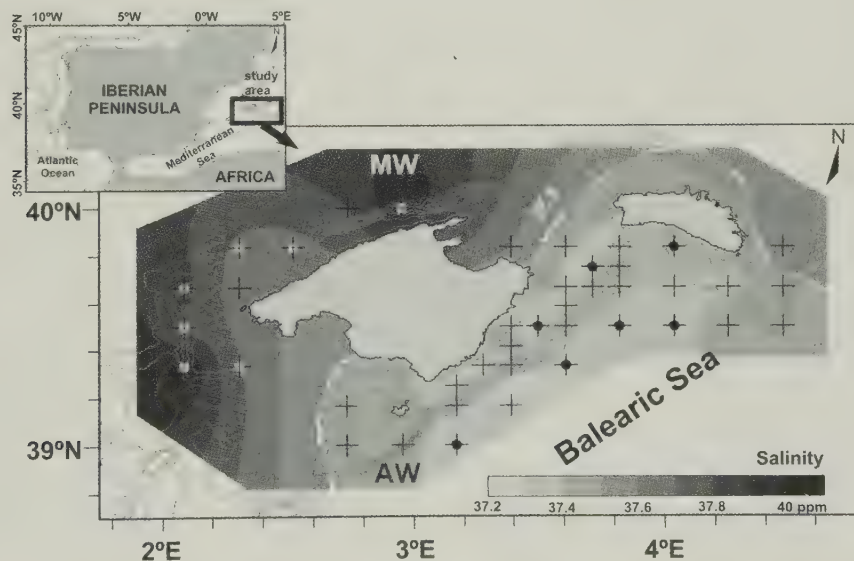


Fig. 1. Selected stations sampling distribution according to the PCA analysis (Pearson linear correlation coefficient). Temperature, salinity and mesozooplankton biomass were linear factors (86.6% representation within two factors). Mediterranean-MW (○) and Atlantic-AW (●) overlapped to salinity (ppm) contours in the study area.

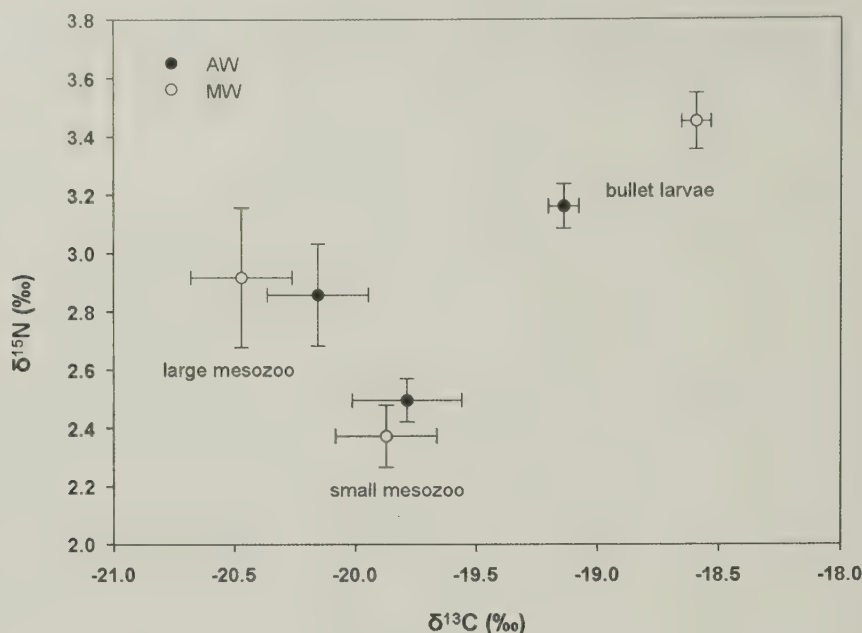


Fig. 2. $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values (mean $\pm$ standard error ‰) for small and large mesozooplankton size fractions and for *A. rochei* larvae in both Mediterranean water (○, MW) and Atlantic water (●, AW) of Balearic Sea.

of Atlantic origin with the Mediterranean waters (Jurado *et al.*, 1995) which as a consequence cause an intense hydrographic circulation which bring about important mesoscale features, as fronts and gyres (Vélez-Belchí and Tintoré, 2001). Incoming Surface Atlantic water masses are characteristically nutrient poor in comparison to the more saline and nutrient-rich Mediterranean waters. The extent of mixing of water masses in the area influences the degree of zooplankton variability (Fernández de Puelles *et al.*, 2007). This oceanographic scenario provides a suitable spawning habitat for various tuna species, among which the medium sized bullet tuna (*Auxis rochei*) is the most abundant, and the target of seasonal artisanal fisheries in the NW Mediterranean (Sabatés and Recasens, 2001). The species possibly plays a key-stone role in the NW Mediterranean as a consequence of their abundance and their early trophic piscivorous diet (Morote *et al.*, 2008).

Bullet tuna larvae were simultaneously sampled with zooplankton in the Balearic Sea within differentiated salinity/temperature Mediterranean (MW) and Atlantic (AW) water masses (Fig. 1). A faster growth was observed in larvae from MW. To investigate on the environmental causes that determine growth variability, $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ were used to elucidate whether these differences may be attributed to differences in the planktonic food web that characterize each water mass.

Bullet tuna larvae from MW had significantly higher values in the $\delta^{15}\text{N}$ than those from AW (Fig. 2) indicating a greater trophic specialization in MW larvae. From the perspective of trophic level enrichment of the stable isotope of nitrogen through the early life trophic food web, it can be inferred that bullet tuna larvae essentially prey upon the small mesozooplankton size fraction. Since $\delta^{15}\text{N}$ values do not show significant differences between AW and MW in the small mesozooplankton size fractionation, the faster growth of MW bullet tuna larvae may be attributed to a greater trophic specialization of MW bullet tuna. Thus, this study shows that stable isotope studies are useful tools in distinguishing the trophic pathways that affect the early life stages of the bullet tuna larvae inhabiting the Balearic oceanic

marine ecosystems.

Key words : Bullet tuna larvae, daily growth, stable isotope, trophism, C:N ratio, Balearic Sea

References

- Bode A., Alvarez-Ossorio M. T., Cunha M. E., Garrido S., Peleteiro J. B., Porteiro C., Valdés L., and Varela M., 2007: Stable nitrogen isotope studies of the pelagic food web on the Atlantic shelf of the Iberian Peninsula. *Progr. Oceanogr.* **74**, 115–131.
- Fernández de Puellas M. L., Alemany F., and Jansa J., 2007: Zooplankton time-series in the Balearic Sea (Western Mediterranean): Variability during the decade 1994–2003. *Progr. Oceanogr.* **74**, 329–354.
- López-Jurado J.L., Garcia Lafuente J. and Cano N., 1995. Hydrographic conditions of the Ibiza Channel during November 1990, March 1991, July 1992. *Oceanol. Acta*, **18**:235–243.
- Morote E., Olivar M. P., Pankhurst P. M., Villate F., and Uriarte I., 2008: Trophic ecology of bullet tuna *Auxis rochei* larvae and ontogeny of feeding-related organs. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **353**, 243–254.
- Pepin P., and Dower J. F., 2007: Variability in the trophic position of larval fish in a coastal pelagic ecosystem based on stable isotope analysis. *J. Plankton Res.* **29**, 727–737.
- Sabatés A., and Recasens L., 2001: Seasonal distribution and spawning of small tunas, *Auxis rochei* (Risso) and *Sarda sarda* (Bloch) in the northwestern Mediterranean. *Sci. Mar.*, **65**, 95–100.
- Vélez-Belchí P., and Tintoré J., 2001: Vertical velocities at an ocean front. *Sci. Mar.*, **65**, 301–304.

Diet of young Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in eastern and western Atlantic foraging grounds

John M. LOGAN^{*1}, Enrique RODRIGUES-MARIN^{*2}, Nicolas GONI^{*3}, Santiago BARREIRO^{*2},
Haritz ARRIZABALAGA^{*3}, Walter GOLET^{*1}, and Molly LUCTCAVAGE^{*1}

Abstract : Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) are highly migratory predators whose abundance, distribution, and somatic condition have changed over the past decades. Prey community composition and abundance have also varied in several foraging grounds. To better understand underlying food webs and regional energy sources, we performed stomach content and stable isotope analyses on mainly juvenile (60–150 cm curved fork length) bluefin tuna captured in foraging grounds in the western (Mid-Atlantic Bight) and eastern (Bay of Biscay) Atlantic Ocean. In the Mid-Atlantic Bight, bluefin tuna diet was mainly sand lance (*Ammodytes* spp., 29% prey weight), consistent with historic findings. In the Bay of Biscay, krill (*Meganyctiphanes norvegica*) and anchovy (*Engraulis encrasicolus*) made up 39% prey weight, with relative consumption of each reflecting annual changes in prey abundance. Consumption of anchovies apparently declined after the local collapse of this prey resource. In both regions, stable isotope analysis results showed that juvenile bluefin tuna fed at a lower trophic position than indicated by stomach content analysis. In the Mid-Atlantic Bight, stable isotope analyses suggested that 30% of the diet was prey from lower trophic levels that composed 10% of the prey weights based upon traditional stomach content analyses. Trophic position was similar to juvenile fish sampled in the NW Atlantic but lower than juveniles sampled in the Mediterranean Sea in previous studies. Our findings indicate that juvenile bluefin tuna targeted a relatively small range of prey species and regional foraging patterns remained consistent over time in the Mid-Atlantic Bight but changed in relation to local prey availability in the Bay of Biscay.

Original reference : Logan, J.M., E. Rodríguez-Marín, N. Goñi, S. Barreiro, H. Arrizabalaga, W. Golet and M. Lutcavage. 2011: Diet of young Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in eastern and western Atlantic foraging grounds. Mar. Biol. **158**(1), 73-85. Reproduced with permission from Marine Biology, Springer.

2013年9月5日受理 (Received on September 5, 2013)

^{*1} Large Pelagics Research Center, Department of Biological Sciences, University of New Hampshire, Durham, NH 03824, USA

^{*2} Instituto Español de Oceanografía (IEO), Centro Oceanográfico de Santander, Apartado 240, 39080 Santander, Spain

^{*3} ATZI Tecnalia, Herrera Kaia Portualdea z/g, 20110 Pasaia, Gipuzkoa, Spain

Habitat utilization by small cetaceans in summer in the North Pacific

Yu KANAJI^{*1}, Makoto OKAZAKI^{*2}, and Tomio MIYASHITA^{*1}

The vast pelagic environment of the North Pacific Ocean (NPO) is an important habitat for a number of small cetacean species. Since the 1980s, the National Research Institute of Far Seas Fisheries (NRIFSF) has conducted systematic cetacean sighting surveys to estimate the abundance and distribution patterns of each species. These surveys have covered almost the entire area of the NPO, extending from the equator to the Sea of Okhotsk and from the Japanese coast to the west coast of North America (Miyashita, 1993a, b). Here we outline the results of these long-term sighting surveys conducted by the NRIFSF and review the distribution patterns of several small

cetacean species in the NPO.

The NRIFSF sighting surveys during summer months from July to September have covered more than 300,000 nautical miles of trackline between 1983 and 2006 (Fig. 1). Numerous species have been encountered in these surveys, and their geographic distributions have been observed to vary in response to latitudinal temperature and salinity gradients. The NPO is primarily divided into the cyclonic subarctic gyre, which is characterized by cool and low-salinity water, and the anti-cyclonic subtropical gyre, which is characterized by warm high-salinity water (Pearcy, 1991; Tomczak and Godfrey, 2003). The

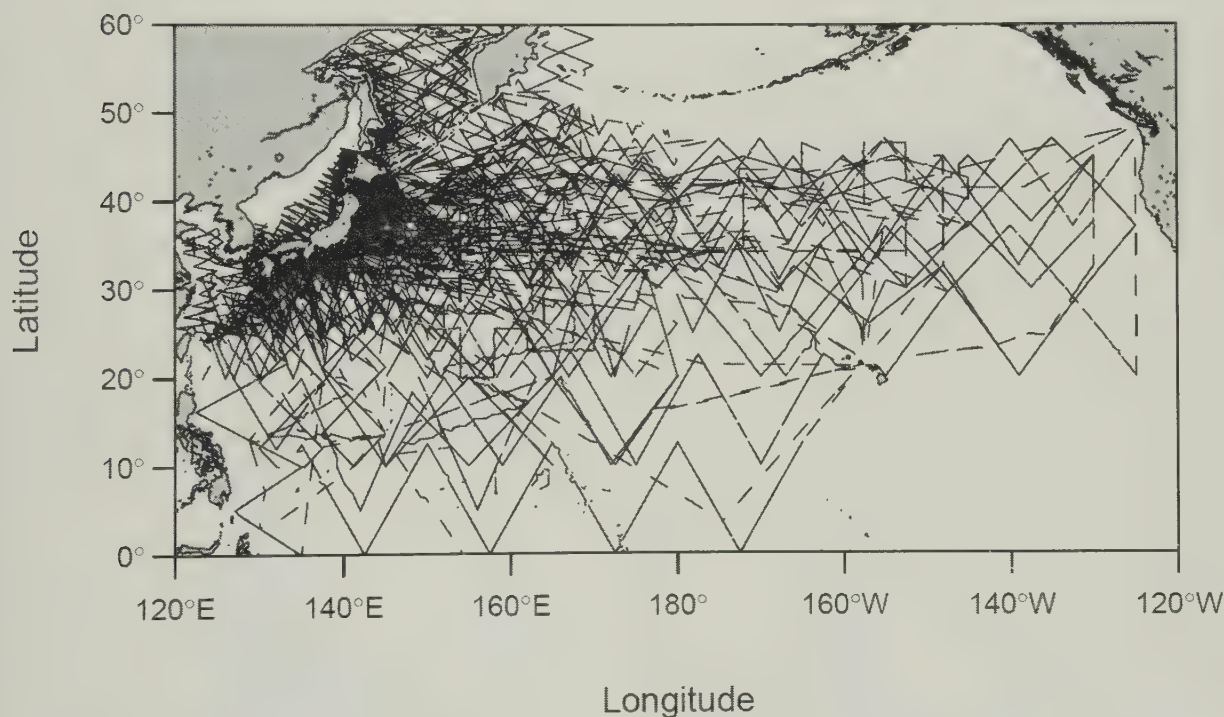


Fig. 1. Map of shipboard survey tracklines conducted by NRIFSF in summer seasons from 1983 to 2006.

2013年9月5日受理 (Received on September 5, 2013)

^{*1} National Research Institute of Far Seas Fisheries, Fisheries Research Agency, 2-12-4, Fukuura, Kanazawa, Yokohama, Kanagawa 236-8648, Japan

^{*2} National Research Institute of Fisheries Science, Yokohama, Fisheries Research Agency, 2-12-4, Fukuura, Kanazawa, Yokohama, Kanagawa 236-8648, Japan

boundary between these two water masses is formed by the Kuroshio Current and the Kuroshio Extension. In association with these gyral systems, the NPO can further be divided into distinct domains based on oceanographic fronts, and the following species have been observed in each of these domains: Dall's porpoise (*Phocoenoides dalli*) in the subarctic domain, Pacific white-sided dolphin (*Lagenorhynchus obliquidens*) in the transitional domain, short-beaked common dolphin (*Delphinus delphis*) in the transition zone, and pantropical spotted dolphin (*Stenella attenuata*) in subtropical waters. Dall's porpoise was typically sighted north of 42° N (Fig. 2a), while the

Pacific white-sided dolphin and short-beaked common dolphin both exhibited zonal distributions extending from the Japanese coast to close to the west coast of North America between 37–47° N and 34–42° N, respectively (Fig. 2b, c). The pantropical spotted dolphin was sighted in a latitudinally broad range extending from the equator to 37° N in both coastal and offshore waters (Fig. 2d). Several epipelagic and mesopelagic fish and squid communities were also associated with these oceanographic structures (e.g., Pearcy, 1991; Pearcy *et al.*, 1996; Sassa *et al.*, 2002; Willis *et al.*, 1988). Physical environmental parameters, such as water

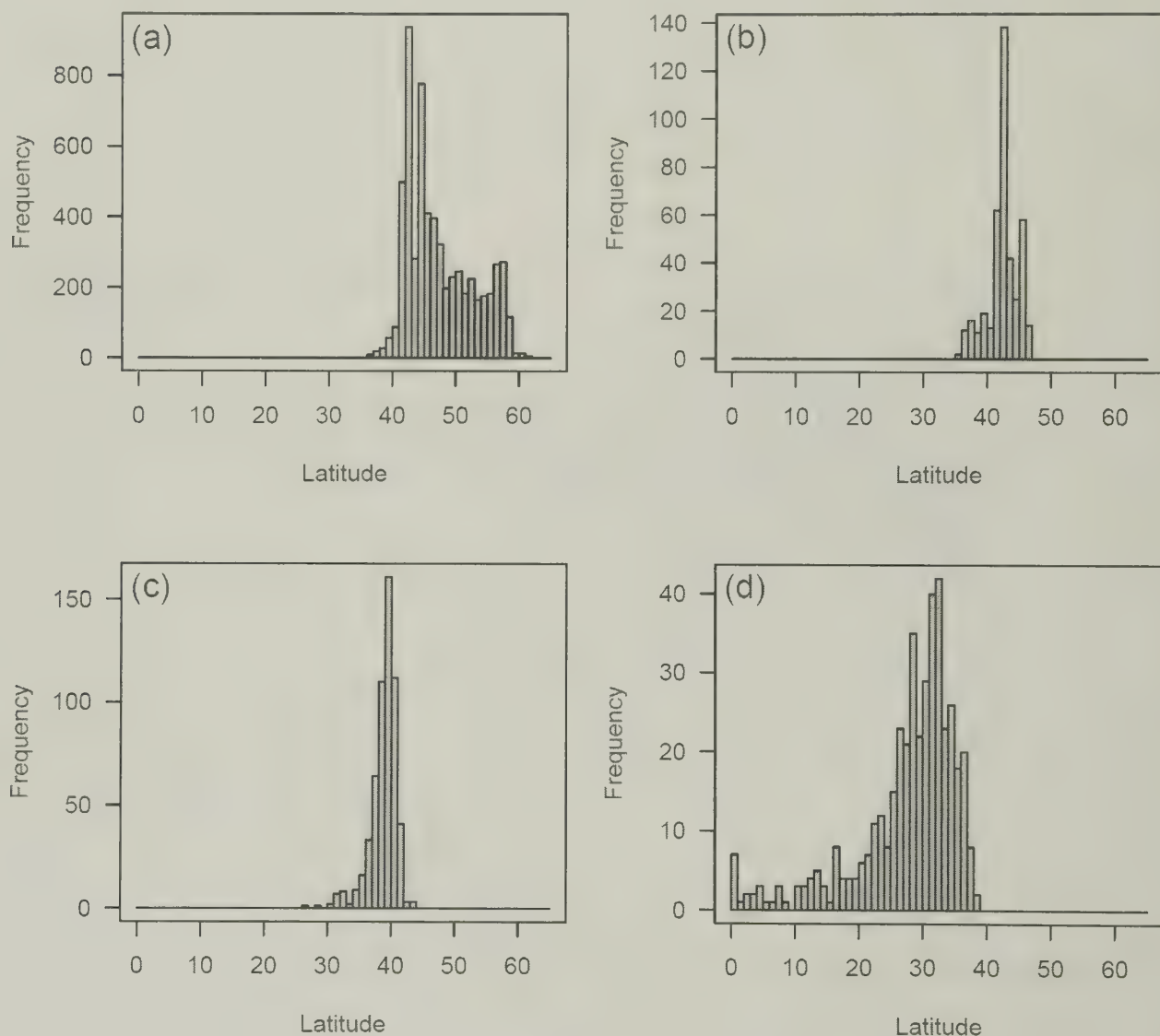


Fig. 2. Frequency distributions of the numbers of sightings for every 1° latitude (a: Dall's porpoise, b: Pacific white-sided dolphin, c: short-beaked common dolphin, and d: pantropical spotted dolphin).

temperatures and salinity, as well as primary productivity and the resulting food availability, are all important determinants of extant biogeographical characteristics of cetacean species.

In recent years, satellite environmental data have become widely distributed through international databases. Since these data show the current and previous features of marine physical environments, applying these data to our study will facilitate a more comprehensive understanding of distribution patterns, population structure, and long-term trends in abundance of cetacean species in the NPO. Future studies on modelling the relationships between cetacean distributions and environmental variables are required.

References

- Miyashita T., 1993a: Abundance of dolphin stocks in the western North Pacific taken by the Japanese drive fishery. *Rep. Int. Whal. Commn.* **43**, 417-437.
- Miyashita T., 1993b: Distribution and abundance of some dolphins taken in the North Pacific driftnet fisheries. *Int. N. Pac. Fish. Comm. Bull.* **53**, 435-449.
- Pearcy W. G., 1991: Biology of the transition region. *In* *Biology, oceanography, and fisheries of the North Pacific Transition Zone and Subarctic Frontal Zone*, (ed. by Wetherall J. A.), NOAA Tech. Rep., NMFS **105**, 39-55.
- Pearcy W. G., Fisher J. P., Anma G., and Meguro T., 1996: Species associations of epipelagic nekton of the North Pacific Ocean, 1978-1993. *Fish. Oceanogr.* **5**, 1-20.
- Sassa C., Kawaguchi K., Kinoshita T., and Watanabe C., 2002: Assemblages of vertical migratory mesopelagic fish in the transitional region of the western North Pacific. *Fish. Oceanogr.* **11**, 193-204.
- Tomczak M. and Godfrey J. S., 2003: *Regional Oceanography: an Introduction*. 2nd improved edition. Daya Publishing House, Delhi. 390p.
- Willis J. M., Pearcy W. G., and Parin N. V., 1988: Zoogeography of midwater fishes of Subarctic Pacific. *Bull. Ocean. Res. Inst. Univ. Tokyo.* **26**, 79-142.

Shift in trophic role of northern fur seals in the northwestern Pacific Ocean

Shiroh YONEZAKI^{*1} and Masashi KIYOTA^{*1}

Ecological characteristics of northern fur seals

Northern fur seals (*Callorhinus ursinus*, NFS) are the most abundant otariid species with recent population estimates reaching approximately 1.2 million (Angliss and Lodge, 2004). NFS are widely distributed in the subarctic zone of the North Pacific Ocean, with the northwestern Pacific Ocean (particularly the area off the Tohoku region of Japan) providing a major wintering and foraging area for NFS. Approximately 100,000 of fur seals, primarily adult females and juveniles, migrate to this area where they remain from the winter to early spring. Thus, NFS are important apex predators in the area, which corresponds to one of the most productive fishing grounds in the world due to mixing of the Kuroshio and Oyashio currents.

“Miho Collection”; long-term time series data and sample collection

Under the auspices of the North Pacific Fur Seal Commission, the National Research Institute of Far Seas Fisheries (NRIFSF) previously conducted a long-term investigation of NFS breeding and ecology in the Tohoku and Hokkaido regions. From the 1960s to the 1980s, the study accumulated extensive time series data, samples, and biological information, including stomach content data, and gonad and canine teeth specimens. The NFS data and sample archive was named the “Miho Collection” after the scenic spot “Miho no Matsubara”, which located near the NRIFSF laboratory. The Miho Collection has provided valuable information on the ecology of NFS and on the variability of marine ecosystems generally.

Relationship between NFS diet and prey environment

Previously, studies on NFS diet were conducted based on snapshots of their prey preference observed by short-term sampling (e.g., Wada, 1971, Antonelis *et al.*, 1997, Kiyota *et al.*, 1999), or on a much more general picture obtained by pooling long-term diet data (e.g., Kajimura, 1985, Perez and Bigg, 1986, Gudmundson *et al.*, 2006, Zeppelin and Ream, 2006). However, very few studies have focused on the long-term changes in NFS diet in the northwestern Pacific Ocean.

We therefore analyzed decadal changes in NFS diet using the “Miho Collection” (Yonezaki *et al.*, 2008). The stomach contents data revealed that dominant prey species consisted of Japanese sardine (*Sardinops melanostictus*), chub mackerel (*Scomber japonicus*), walleye pollock (*Theragra chalcogramma*), myctophid fishes, sparkling enope squid (*Watasenia scintillans*), and oceanic squids. Compared with NFS populations in the northeastern Pacific Ocean, one of the characteristic features of NFS food preference in the northwestern Pacific Ocean is the high proportion of myctophids and sparkling enope squid. In the 1980s, an increase in the percentage wet weight of Japanese sardine in the NFS diet corresponded with a marked increase in commercial harvests of this species. Similarly, an increase in the percentage wet weight of chub mackerel in the NFS diet also corresponded to an increase in the commercial harvests of this species between the 1970s and 1980s. Long-term shifts in ocean climate have caused marked changes in pelagic fish communities (Kawasaki, 1983, Yatsu *et al.*, 2003), and the decadal-scale NFS diet data revealed shifts in the prevalence of Japanese sardine and chub mackerel. Specifically, preference for these fish species was

reflected by a decadal alternation in the dominance of these fishes within the pelagic waters of the Tohoku region (Yonezaki *et al.*, 2008).

Stable isotope ratios (i.e. indicators of the trophic level position of various marine organisms) of NFS gonad samples from the Tohoku region revealed historical changes in the food environment. The ^{15}N ratios of adult female NFS gonad tissue showed a marked decrease from high mean values in 1969, 1970 and 1971 (i.e. "Mackerel regime") to low means in 1987 and 1988 (i.e. "Sardine regime"). Analysis of stomach content data indicated that this decline in ^{15}N ratios (1.5 ‰) was related to the explosive increase in Japanese sardine populations in the 1980s. Since Japanese sardine consume phytoplankton and occupy a lower trophic level compared to other prey species, intensive feeding on Japanese sardines may have decreased the trophic level of NFS in the region.

Trophic role of NFS in the subarctic ecosystem of the northwestern Pacific

These results suggest that NFS are important apex predators in the Tohoku region that feed upon a variety of prey species by changing their diet in response to shifts in the distribution and abundance of prey species. The changes in the ^{15}N ratios of NFS gonads may be indicative of a decrease in the length of the food chain from primary production to the top predators in oceanic ecosystems, and/or the utilization of food resources from different systems.

In future studies, we will attempt to clarify whether the shifts observed in the trophic level of NFS due to changes in the food environment could impact on their productivity and population dynamics using the information on their fecundity and fetal weight from the "Miho Collection".

Acknowledgments

We thank Kazumoto Yoshida, Norihisa Baba, and the numerous researchers and crew members of the research vessels engaged in the collection of the northern fur seal samples ("Miho Collection"). We thank Hiroshi Minami and Yuka Ishihi for their assistance with the stable isotope analysis. Collection,

possession and treatment of the northern fur seal samples were performed under a permit issued by the Ministry of Agriculture, Forestry, and Fishery of Government of Japan. This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (No. 21580241).

References

- Angliss R. P. and Lodge K. L., 2004: Alaska marine mammal stock assessment, 2003. *NOAA Tech. Memo. NMFS-AFSC*, **144**, 18-24.
- Antonelis G. A., Sinclair E. H., Ream R. R., and Robson B. W., 1997: Inter-island variation in the diet of female northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) in the Bering Sea. *J. Zool.*, **242**, 435-451.
- Gudmundson C. J., Zeppelin T. K., and Ream R. R., 2006: Application of two methods for determining diet of northern fur seals (*Callorhinus ursinus*). *Fish. Bull.*, **104**, 445-455.
- Kajimura H., 1985: Opportunistic feeding by the northern fur seals, *Callorhinus ursinus*, in "Marine mammals and fisheries" (ed. by Beddington J. R., Beverton R. J. H., and Lavigne D. M.), G. Allen & Unwin, London, pp. 300-318.
- Kawasaki T., 1983: Why do some pelagic fishes have wide fluctuations in their numbers? - Biological basis of fluctuation from the viewpoint of evolutionary ecology-. *FAO Fish. Rep.*, **291**, 1065-1080.
- Kiyota M., Kawai C., and Baba N., 1999: Estimation of diet of male northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) based on analysis of fecal and regurgitated materials. *Bull. Nat. Res. Inst. Far Seas Fish.*, **36**, 1-7 (in Japanese with English abstract)
- Perez M. A. and Bigg M., 1986: Diet of northern fur seals, *Callorhinus ursinus*, off western North America. *Fish. Bull.*, **84**, 957-971.
- Wada K., 1971: Food and feeding habit of northern fur seals along the coast of Sanriku. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **64**, 1-37 (in Japanese with English abstract)
- Yatsu A., Nagasawa K., and Wada T., 2003: Decadal changes in abundance of dominant pelagic fishes and squids in the Northwestern Pacific Ocean since 1970s and implications on fisheries management. *Am. Fish. Soc. Symp.*, **38**, 675-684.

Yonezaki S., Kiyota M. and Baba N., 2008: Decadal changes in the diet of northern fur seal (*Callorhinus ursinus*) migrating off the Pacific coast of northeastern Japan. Fish. Oceanogr., **17**, 231-238.

Zeppelin T. K. and Ream R. R., 2006: Foraging habitats based on the diet of female northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) on the Pribilof Islands, Alaska. J. Zool., **270**, 565-576.

Review of trophic interactions of the jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, in the southeast Pacific Ocean

Yoshiki KATO^{*1}, Toshie WAKABAYASHI^{*1}, and Mitsuo SAKAI^{*1}

The Jumbo flying squid *Dosidicus gigas* (*D. gigas*), an oceanic-neritic species, is endemic to the eastern Pacific Ocean (Koronkiewicz, 1988). The squid is an important target species in Japan and other countries of the world, and a maximum annual global catch of 800,000 and over 750,000 tons/year was harvested in 2008 and 2010, respectively (F.A.O., 2010). Although the historical distribution range of this species comprised the Eastern Pacific waters from 30°N to 25°S (Nigmatullin *et al.*, 2001), the range has recently expanded poleward in both the northern and southern hemispheres. In addition, *D. gigas* has also been found in the submarine canyon system associated with Monterey Bay (37°N) since the 1997-1998 El Niño (Zeidberg and Robison, 2007), and individuals have been reported from as far north as southeastern Alaska (59°N) (Field *et al.* 2007, Staaf, 2010).

Prey preference has been reported to change from macroplanktonic invertebrates and fish fry in *D. gigas* juveniles, to fish and squid in *D. gigas* adults (Nigmatullin, 2001). The size of prey has also been reported to increase as the squid grows (Shchetinnikov, 1989). A recent study reported that *D. gigas* preys upon tuna (Olson *et al.* 2006) and Chilean hake *Merluccius gayi* (Alarcón-Muñoz *et al.*, 2008) caught in purse-seine sets. Analyses of mature *D. gigas* stomach contents showed that their diet consists predominantly of fishes, suggesting that this species is an opportunistic predator (Ulloa *et al.*, 2006). Detrended correspondence analysis ordination showed that the main prey items in the diet of *D. gigas* are associated with the target species of the respective fishery (Ibáñez, 2008). Cannibalism is common, but only among a relatively small number of juvenile squid (3-4%) (Ehrhardt, 1991). Laboratory and field observations have shown that adult squid

(mantle length: 200 to 350 mm), consume 5 to 9% of their body weight a day (Nigmatullin *et al.*, 2001).

On the other hand, *D. gigas* is also an important prey species, with juveniles preyed upon by pelagic fish (Rosas-Aloya *et al.*, 2002), and adults, by larger pelagic fishes (Abitia-Cardenas *et al.*, 1999, Rosas-Aloya *et al.*, 2002) and sperm whales, *Physeter macrocephalus* (Ruiz-Cooley *et al.*, 2004).

Cephalopods play an important role in oceanic food webs; their populations are subject to marked fluctuations and their impact on prey populations is equally variable (Rodhouse and Nigmatullin 1996, Piatkowski *et al.* 2001). *D. gigas* is a particularly important prey and predator species in the southeastern Pacific Ocean (Markaida and Sosa-Nishizaki, 2003). Field *et al.* (2007) reported that their ability to prey on larger items is indicative of their potential impact on ecosystems. Nonetheless, despite their importance in pelagic ecosystems, their feeding behavior and the ontogenic changes in prey consumption are not well understood. Future studies will therefore examine ontogenic changes in foraging behavior using stable isotope analysis.

References

- Abitia-Cardenas L. A., Galvan-Magana F., Gutierrez-Sanchez F. J., Rodriguez-Romero J., Aguilar-Palomino B., and Moehl-Hitz A., 1999: Diet of blue marlin *Makaira mazara* off the coast of Cabo San Lucas, Baja California Sur, Mexico. Fish. Res., **44**, 95-100.
- Alarcon-Munoz R., Cubillos L., and Gatica C., 2008: Jumbo squid (*Dosidicus Gigas*) biomass off central Chile: effects on Chilean hake (*Merluccius Gayi*). Cal. Co. Fi. Rep., **49**, 157-166.
- Ehrhardt N. M., 1991: Potential impact of a seasonal

- migratory jumbo squid (*Dosidicus Gigas*) stock on a gulf of California sardine (*Sardinops Sagax Caerulea*) population. Bull. Mar. Sci., **49**, 325–332.
- Field J. C., Baltz K., Phillips A. J., and Walker W. A., 2007: Range expansion and trophic interactions of the jumbo squid, *Dosidicus Gigas*, in the California Current. Cal. Co. Fi. Rep., **48**, 131–146.
- F.A.O., 2010: FAO yearbook. fishery and aquaculture statistics. Rome, Italy. ISSN2070–6057
- Ibáñez C. M., Arancibia H., and Cubillos L. A., 2008: Biases in determining the diet of jumbo squid *Dosidicus gigas* (D' Orbigny 1835) (Cephalopoda: Ommastrephidae) off southern-central Chile (34° S–40 ° S). Helgol. Mar. Res., **62**, 331–338.
- Korunkiewicz A., 1988: Biological characteristics of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) caught in open waters of the eastern central Pacific from October to December 1986. ICES CM 1988/K:42
- Markaida U. and Sosa-Nishizaki O., 2003: Food and feeding habits of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico. J. Mar. Biol. Assoc. U.K., **83**, 507–522.
- Nigmatullin C. M., Nesis K. N., and Arkhipkin A. I., 2001: A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae). Fish. Res., **54**, 9–19.
- Olson R. J., Roman-Verdesoto M. H., and Macias-Pita G. L., 2006: Bycatch of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the tuna purse-seine fishery of the eastern Pacific Ocean and predatory behaviour during capture. Fish. Res., **79**, 48–55.
- Piatkowski U., Pierce G. J., Morais da Cunha M., 2001: Impact of cephalopods in the food chain and their interaction with the environment and fisheries: an overview. Fish. Res., **52**, 5–10.
- Rodhouse P. G. and Nigmatullin C. M., 1996: Role as consumers. Phil. Trans. R. Soc. B, **351**, 1003–1022.
- Rosas-Alayola J., Hernandez-Herrera A., Galvan-Magana F., Abitia-Cardenas L. A., and Muhlia-Melo A. F., 2002: Diet composition of sailfish (*Istiophorus platypterus*) from the southern Gulf of California, Mexico. Fish. Res., **57**, 185–195.
- Ruiz-Cooley R. I. G. D., Aguiniga S., Mesnick S., and Carriquiry J. D., 2004: Trophic relationships between sperm whales and jumbo squid using stable isotopes of C and N. Mar. Ecol. Prog. Ser., **277**, 275–283.
- Shchetinnikov A. S., 1989: Food spectrum of the squid *Dosidicus gigas* (Oegopsida) in the ontogenesis. Zool. Zh., **68**, 28–39.
- Staaf D. J., 2010: Reproduction and early life of the Humboldt squid. Ph.D. thesis, Stanford university, Monterey, U.S.A.
- Ulloa P., Fuentealba M., and Ruiz V., 2006: Feeding habits of *Dosidicus gigas* (D' Orbigny, 1835) (Cephalopoda : Teuthoidea) in the central-south coast off Chile. Rev. Chil. Hist. Nat., **79**, 475–479.
- Zeidberg L. D. and Robison, B. H., 2007: Invasive range expansion by the Humboldt squid, *Dosidicus gigas*, in the eastern North Pacific. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **104**, 12946–12948.

Numerical studies focusing on the early life stage of Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*)

Masachika MASUJIMA^{*1}, Yoshiaki KATO^{*2} and Kyo-hei SEGAWA^{*1}

Key words : Pacific bluefin tuna, larva, juvenile, individual-base model

Introduction

Compared to other tuna species, the Pacific bluefin tuna (PBF), *Thunnus orientalis*, is known to have the most restricted spawning grounds near the Nansei Islands and the Sea of Japan, which also serve as nursery grounds of the larvae and juveniles of this species. This numerical study on the early life stages of PBF has two objectives; one is to estimate the spawning grounds of this species based on larval samples and ocean environmental characteristics, and the other is to estimate where the juveniles cross the Kuroshio Current from offshore areas as they move to coastal areas.

Methods

To simulate the transport process of individual larvae and the swimming process of juveniles, the following equations are applied to individual PBFs at discrete time intervals starting with certain initial conditions:

$$d\vec{X}/dt = \vec{v}_{adv} + \vec{v}_{diff} + \vec{v}_{swim},$$

$$\vec{v}_{diff} = RC_{horcon} \sqrt{u_x^2 + v_y^2 + u_y v_x},$$

$$\vec{v}_{swim} = rL\vec{\nabla}H_c(x, y)/|\vec{\nabla}H_c(x, y)|,$$

$$H_c(x, y) = \log(C(x, y)/C_1)/\log(C_2/C_1), C_1 \leq C \leq C_2,$$

where v_{adv} is the ocean current velocity obtained from an ocean general circulation model, FRA-JCOPE, v_{diff} is a random velocity due to oceanic horizontal diffusion expressed by the Smagorinsky scheme, R is a random number between -1 and 1

selected at each time step for each individual particle, and C_{horcon} is a constant in the Smagorinsky scheme, and is assumed to be 0.05. v_{swim} is the swimming velocity of juveniles at 20 days after hatching (DAH) and older. Magnitude of v_{swim} is proportional to the body length, L , with ratio, $r = 2.0, 2.5, 3.0 \text{ s}^{-1}$ for 20-30, 30-40, 40-55 DAH, respectively (Sabate *et al.*, 2010; Fukuda *et al.*, 2010). Juveniles were assumed to swim along the gradient of the habitat suitability index (HSI), H_c . High chlorophyll concentrations, C , were assumed to be preferable for juvenile development. The minimum and maximum chlorophyll concentrations were taken as $C_1 = 0.07 \text{ mg/m}^3$ and $C_2 = 0.22 \text{ mg/m}^3$, respectively, based on field observations (Segawa and Tanabe, 2010).

Estimating the location of the spawning ground of Pacific bluefin tuna

Larvae collected southeast of the Nansei Islands in May 2004 (Tanaka *et al.*, 2006) were traced back to their spawning grounds by estimating their age using a linear regression of their standard length to the age in days (Satoh, 2010), plus one day for hatching. Then, at each sample location of total 37 points, 10000 particles with no swimming ability ($v_{swim} \equiv 0$) were advected horizontally backward in time ($dt < 0$) at a depth of 10 m with random walking ($v_{diff} \neq 0$). Using a 10-minute grid with more than 100 particles as the spawning ground, the spawning grounds were estimated within two degrees of the sample points to the southeast of the Nansei Islands

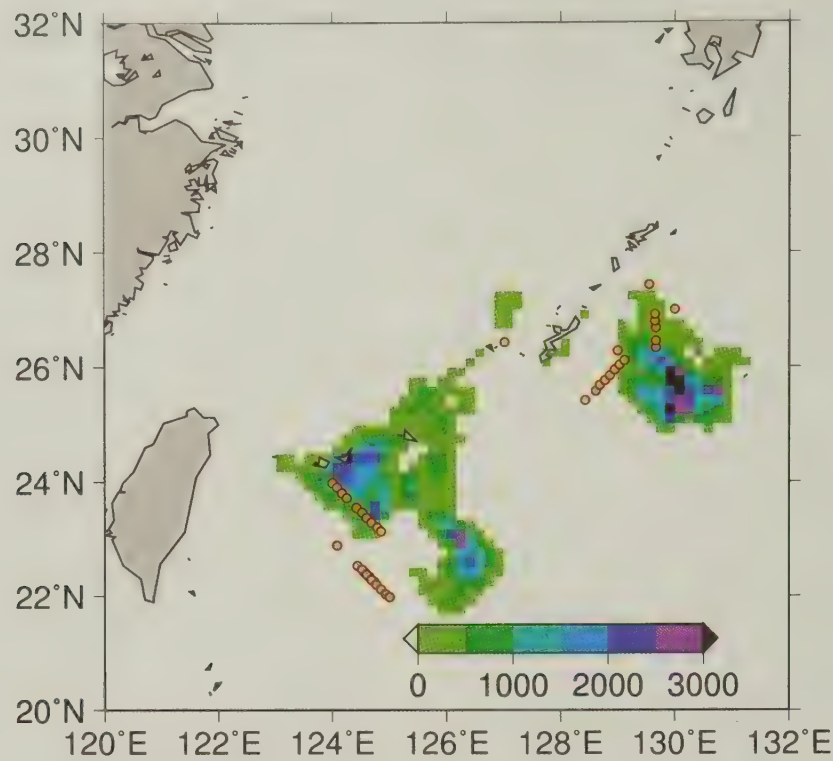


Fig. 1. Spawning grounds estimated using a backward calculation from larval sampling locations recorded on the *Shunyo-maru* cruise in 2007.

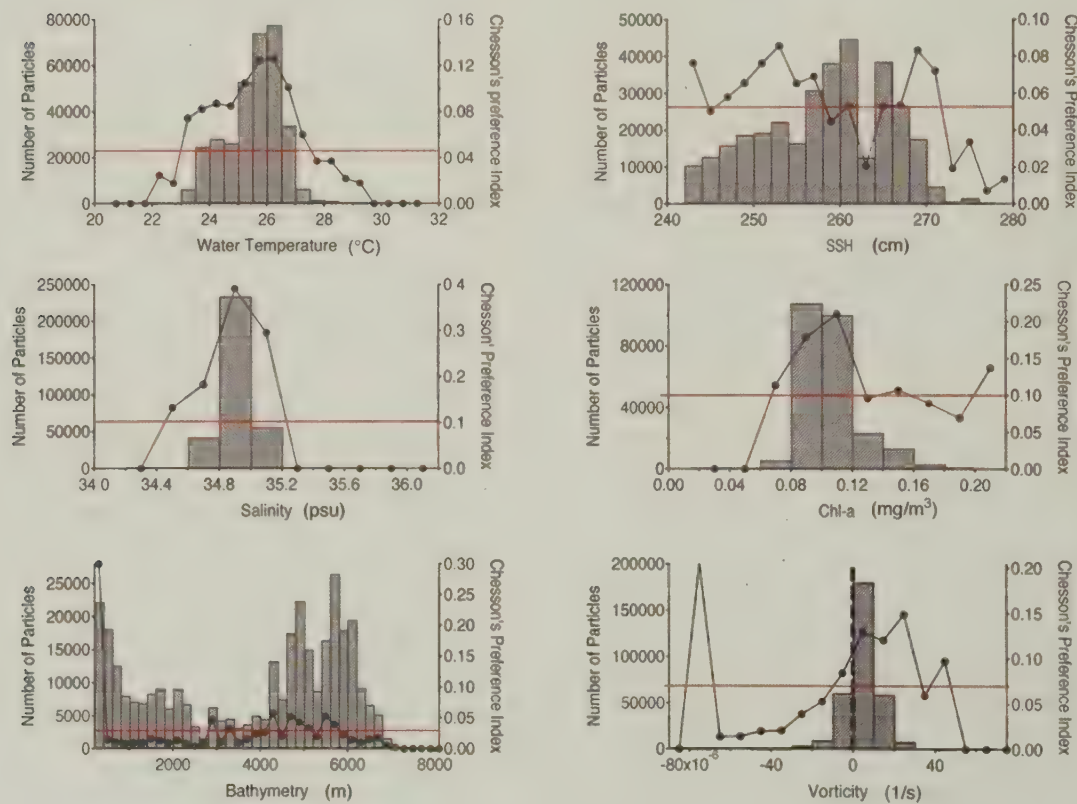


Fig. 2. Histogram and Chesson's index values (Chesson, 1978) for oceanographic parameters within the estimated spawning ground: temperature (top left), salinity (middle left), bathymetry (bottom left), sea surface height (right top), chlorophyll (middle right), relative vorticity (bottom right). Bar and line graphs denote histograms and Chesson's index values, respectively.

(Fig. 1). This is consistent with Kitagawa *et al.* (2010) which suggests that the spawning ground of PBF is restricted to east or south of Taiwan because of optimal thermal conditions for growth and survival.

Figure 2, a simple histogram and Chesson's preference index (Chesson, 1978), shows the existence of favorable oceanic conditions (e.g., temperature, T , vorticity, ζ , salinity, S and chlorophyll concentration, C) for the estimated spawning ground. Using a generalized linear model, suitable values were statistically estimated as $T = 25.4^{\circ}\text{C}$, $\zeta = 1.02 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$, $S = 34.98 \text{ psu}$, $C = 0.41 \text{ mg/m}^3$. The temperature of 25.4°C considered optimal for egg hatching, and the positive vorticity suggests that the spawning ground is likely to be in the cyclonic eddies.

Simulation of Pacific bluefin tuna juveniles crossing the Kuroshio Current

The likelihood and location of juveniles crossing the Kuroshio current around the Nansei Islands was simulated. It is known that such crosses occur because juveniles have been caught around the Gotoh Islands and in Tosa Bay, which are both oceanographically separated from the Nansei Islands by the Kuroshio current. 1500 particles of 20 DAH were released at depths of 0, 10, 20, 30, 40 m ($v_{\text{swim}} \neq 0$, $v_{\text{diff}} \equiv 0$) starting from near the Nansei Islands outside the Kuroshio Current (Fig. 3) from July 1 to 31 in each of the years 2002-2007 and 2009. Except for 2007 and 2009, 0.1-8.3 % of the 7500 particles successfully crossed the Kuroshio Current to reach western Kyushu (Fig. 3), while 0.1-5.2 % reached Tosa Bay continuously during the year (Table 1). These findings suggested that juveniles were able to

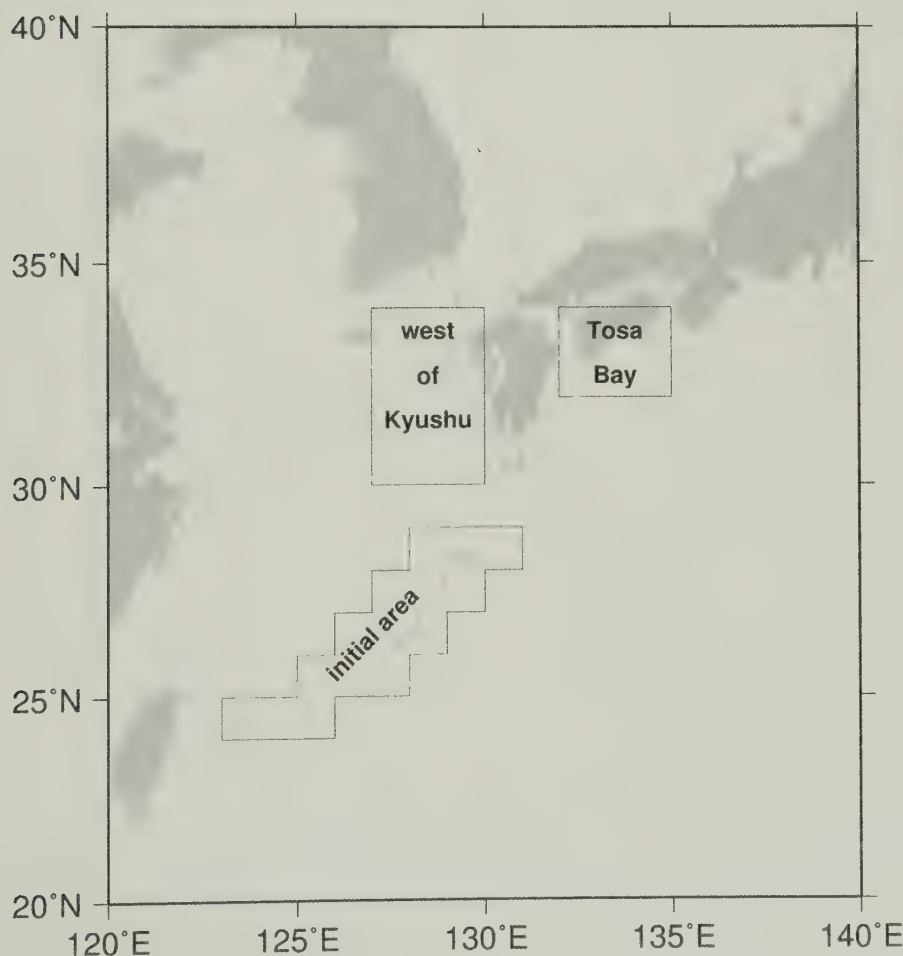


Fig. 3. Map showing initial particle release area, west of Kyushu and Tosa Bay.

	west of Kyushu (%)	Tosa Bay (%)
2002	1.5	5.2
2003	0.1	0.1
2004	0.4	2.8
2005	0.9	2.2
2006	8.3	1.5
2007	0.0	0.1
2009	0.0	0.1
average	1.9	1.7

Table 1. Annual proportion of particles reaching west of Kyushu and Tosa Bay to total particle number (1500 particles).

cross the Kuroshio Current before they were at 50 DAH, i.e., BL <140 mm (Miyashita, 2001). Thus, the model juveniles crossed the Kuroshio Current to the west of Kyushu where large curves in the tracks of the particles are apparent (see, Fig. 4). Preliminary results of recent field surveys by R/V Shunyo-Maru in 2011 focusing on the capture of PBF juveniles support these simulations, suggesting that PBF juveniles caught around the Gotoh Islands moved west of Kyushu from the Nansei Islands.

References

- Chesson J., 1978: Measuring preference in selective predation. *Ecology*, **59**, 211–215.
- Fukuda H., Torisawa S., Sawada Y., and Takagi T., 2010: Ontogenetic changes in schooling behaviour during larval and early juvenile stages of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fish Biology*, **76**, 1841–1847.

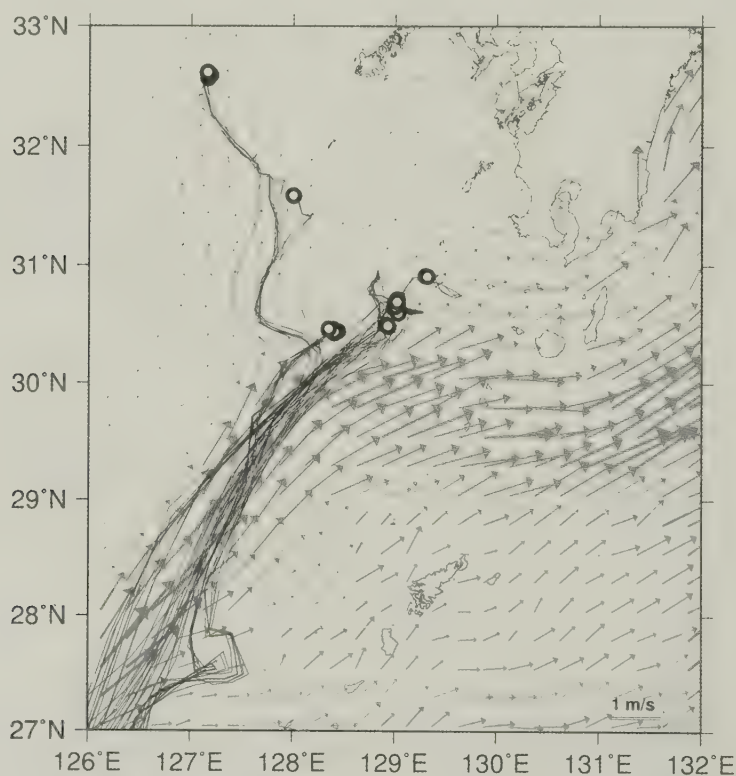


Fig. 4. Particle tracks crossing the Kuroshio Current from their release point near the Nansei Islands to west of Kyushu. Circles denote the position of the particles on 31 July 2002, black lines denote the tracks of the particles, and gray arrows denote surface velocity vectors from FRA-JCOPE. Large arrows indicate the Kuroshio Current.

- Kitagawa T., Kato Y., Miller M. J., Sasai Y., Sasaki H., and Kimura S., 2010: The restricted spawning area and season of Pacific bluefin tuna facilitate use of nursery areas: A modeling approach to larval and juvenile dispersal processes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **393**, 23–31.
- Miyashita S., 2001: Studies on the seeding production of the Pacific bluefin tuna, *Thunnus thynnus orientalis*. Fisheries Laboratory of Kinki University, 1–173 (thesis).
- Sabate F. S., Sakakura Y., Tanaka Y., Kumon K., Nikaido H., Eba T., Nishi A., Shiozawa S., Hagiwara A., and Masuma S., 2010: Onset and development of cannibalistic and schooling behavior in the early life stages of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Aquaculture*, **301**, 16–21.
- Satoh K., 2010: Horizontal and vertical distribution of larvae of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in patches entrained in mesoscale eddies. *Marine Ecology Progress Series*, **404**, 227–240.
- Segawa K., and Tanabe T., 2010: Estimating probable distribution of Pacific bluefin tuna larva and juvenile. *Poster, The Japanese Society of Fisheries Oceanography*.
- Tanaka Y., Satoh K., Iwahash M., and Yamada H., 2006: Growth-dependent recruitment of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific ocean. *Marine Ecology Progress Series*, **319**, 225–235.

Potential application of an underwater towing camera system for a trolling survey of southern bluefin tuna recruitment

Osamu SAKAI^{*1} and Tomoyuki ITOH^{*1}

Abstract : An underwater video camera system was developed, which was capable of being towed at speeds as high as 8 knots during trolling. Using this system, fish behavior during trolling for southern bluefin tuna (SBT), *Thunnus maccoyii*, was observed. Trolling was conducted as a pre-recruitment monitoring survey of SBT off the southern coast of Western Australia during January and February, 2010. Of the eight trolling lines used, one was equipped with a depressor and attached to the underwater video camera system. A total of 714,071 frames of video images (approximately 6.7 hours) were recorded using the underwater camera, and images of SBT were detected in 4,465 of them. Video images of SBT were classified based on 3 types of fish behavior directed towards trolling gear; "No response", "Following the gear", and "Approaching the lure". When SBT hooking was unsuccessful "No response" behavior was frequently observed, and when SBT hooking was successful "Approaching the lure" behavior was mainly observed. These results clearly demonstrated that success of trolling was affected by behavior of fish towards trolling gear. Underwater camera allowed for detection of SBT even when catches were unsuccessful, and this is a highly advantageous feature as the alternative tool of SBT school detection for pre-recruitment monitoring surveys.

Key words : catch efficiency, fish behavior, pre-recruitment survey, southern bluefin tuna, trolling, underwater towing camera

Introduction

Pre-recruitment surveys provide annual indices of year-class strength and improve understanding of the recruitment mechanisms of commercially important fish stock (e.g. van der Linden and Huggett, 2003). Long-term monitoring is essential for the comparison of recruitment success between years, which aids in the understanding of natural and anthropogenic effects on fish stock reproduction (Walters and Pearse, 1996; Cowx *et al.*, 2009). Being able to assess recruitment status and consider adequate stock management strategies is also helpful in the management of commercial fish stocks (Walters and Pearse, 1996). A number of pre-recruitment monitoring programs employing a variety of approaches (e.g. catch/acoustic monitoring,

sighting, and spotting) are used to examine commercial fish stocks all over the world (e.g. Hutchins and Pearce, 1994; Wespestad *et al.*, 2000; Swartzman *et al.*, 2005; Itoh, 2007; Willis, 2008). For southern bluefin tuna (SBT), *Thunnus maccoyii*, the Fisheries Research Agency (FRA) of Japan have carried out pre-recruitment monitoring surveys for age-1 fish along the southern coast of Western Australia since 1988. Trolling/pole-and-line catch operations were used as monitoring methods for the first five years of surveys; however, surveys employing acoustic monitoring with sonar and echo sounders have been used since the mid-1990s. In 2006, line-transect trolling surveys were adopted as the survey method of choice (Itoh *et al.* 2009). In the most recent trolling survey, it was assumed that trolling catch events of SBT represented the

encounters with their schools, and the number of schools detected per trolling distance was provided to the Commission for the Conservation of Southern Bluefin Tuna (CCSBT) as a recruitment index for stock assessment of SBT.

Advantages of trolling surveys include the fact that they are both simple and cost-effective; however, trolling surveys also have disadvantages associated with the sampling gear used. Catch efficiency during trolling surveys has not been determined, and catching success is generally impacted by the effectiveness of fishing gear (Arreguín-Sánchez, 1996); therefore, an inherent uncertainty regarding SBT school detection capability exists in surveys that utilize trolling. It has been pointed out that fish behavior during the catching process is one of the major factors that affect the catching success of fishing (Løkkeborg *et al.*, 1989). One way to observe fish behavior towards fishing gear during the catching process is to utilize underwater video recordings (Graham *et al.*, 2004). A number of video experiments have been conducted regarding the effectiveness, selectivity, and fishing processes associated with trawl net, gillnet, longline, and trolling fishing methods (Løkkeborg *et al.*, 1989; Albert *et al.*, 2003; Grant *et al.*, 2004; Akiyama *et al.*, 1995; Akiyama *et al.*, 2011). It was expected that video recording would serve as a useful means of improving understanding of catch efficiency in SBT trolling surveys.

The purpose of the present study was to describe characteristics and catch processes associated with the trolling gear currently used to survey SBT populations. In order to observe catching processes and behavior of SBT directly, underwater video images were taken during trolling surveys. Based on the video images and trolling catch data obtained, the effect of fish behavior on trolling catch efficiency was analyzed. The potential for underwater cameras as an alternative to trolling in the detection of SBT schools was also discussed.

Methods

SBT trolling surveys have been conducted by F/V "St. Gerard M" (18m, 28t) off the southern coast of Western Australia (34-35.5°S, 117.5-122°W) every

January and February since 2006 (Fig. 1). Underwater camera experiments were conducted during trolling surveys undertaken in the daytime on 22-24, and 26 January 2010. Trolling survey was usually conducted from 5:00 AM to 4:00 PM, and underwater camera was employed for 1-2.5 hours per day during the trolling survey. Total duration of underwater camera experiments was about 7 hours. Eight fishing lines were employed in typical trolling surveys, two of which were equipped with a trolling depressor (Yo-zuri diving board K-type #11, DUEL Co., Inc.) in order to maintain fishing lures and hooks at a depth of approximately 5 m. Trolling speed was around 7-8 knots. During underwater video experiments, a compact digital camera (Optio W60 or 80, Pentax Ricoh Imaging Co., Ltd.) situated within a waterproof housing was attached to one of the fishing lines that was equipped with a depressor. The camera was arranged so as to record rearward-facing video images (30 frames per second) in order to observe SBT behavior towards the trolling gear behind the underwater camera. The camera lens was oriented downward and backward with the sea surface within its field of view. 35 mm equivalent focal length of the camera was set to 28 mm. Underwater angle of view was 44 degrees (vertical) and 29 degrees (horizontal). The hook was removed from the line that the camera apparatus was attached to (Fig. 2). Camera depth was recorded using an ultra-miniature depth recorder (MDS-MkV/D, JFE Advantech Co., Ltd.).

Video images taken were examined on laboratory computer monitors. In order to determine the influence of fish behavior on trolling catch efficiency, SBT individuals which were identified within video images was compared with/without trolling catch events that occurred around the same time periods (within 5 minutes of SBT observation on camera). In this analysis, if SBT was hooked by any of the trolling lines except for the line with underwater camera, it was defined as the "trolling catch events". For the purposes of this analysis, the behaviors of each SBT individual sighted into video images was classified using the following fish behaviors towards trolling gear;

- 1) SBT showed no response to trolling gear,
- 2) SBT followed trolling gear (or boat),

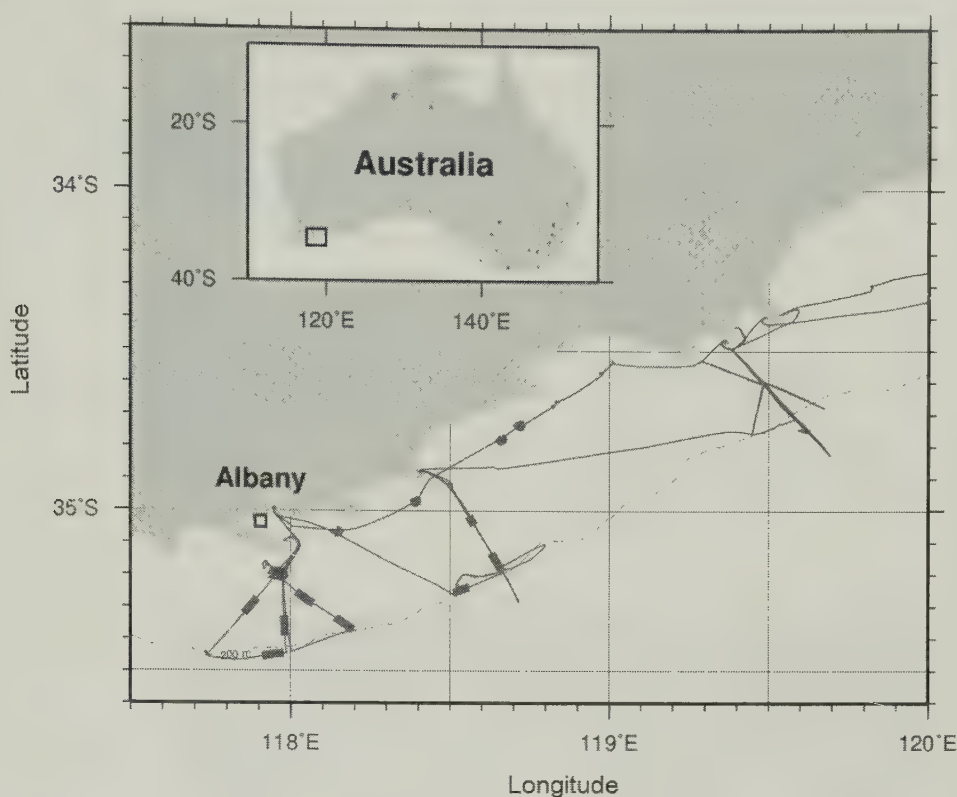


Fig. 1. Location of the SBT pre-recruitment trolling survey conducted in 2010. Thick line indicates location of the underwater camera experiment. Thin line indicates cruise track of the survey. Dashed line indicates the 200 m isobath.

3) SBT approached fishing lure.

Every SBT individual which came into the video frame was treated as different individual, even if there were a possibility that same fish came into view again after going out of the video frame once.

Furthermore, trolling catch events were grouped based on presence or absence of SBT in video images. SBT hooked by any of the trolling gears or SBT sighted by the underwater camera were defined as SBT detection, and each detection capability was compared by dividing experimental periods into 10 minute blocks. Usually, each trolling catch event did not continue more than 5 minute, and SBT individuals in video images tended to go out of the frame immediately (less than a few seconds). Therefore 10 minute was assumed as a reasonable time block length to analyze the relationships of SBT detection between trolling gear and underwater camera.

Statistical analysis was conducted using R 2.10.1 (R Development Core Team, 2009).

Results

During underwater camera experiments, camera towing depth remained stable at around 6-7 m. After eliminating some blurred images, 714,071 frames of video images (about 6.7 hours in total) were used for the analysis. SBT images were detected in 0.6% of them (4,465 frames). 2,650 frames of SBT images showed SBT that approached the fishing lure (51 individuals). The other two behaviors, SBT that followed trolling gear or demonstrated no response to trolling gear, were observed in 410 frames (3 individuals) and 1,405 frames (70 individuals), respectively. The presence or absence of SBT hooking events was associated with observed behaviors of SBT individuals (Pearson's Chi-squared test; Chi-squared=45.8558, df=2, $p<0.001$) (Fig. 3). Fish that exhibited no response to trolling gear behavior were frequently observed (76% of observed individuals) when hooking events did not occur. On the other hand fish that exhibited approaching the

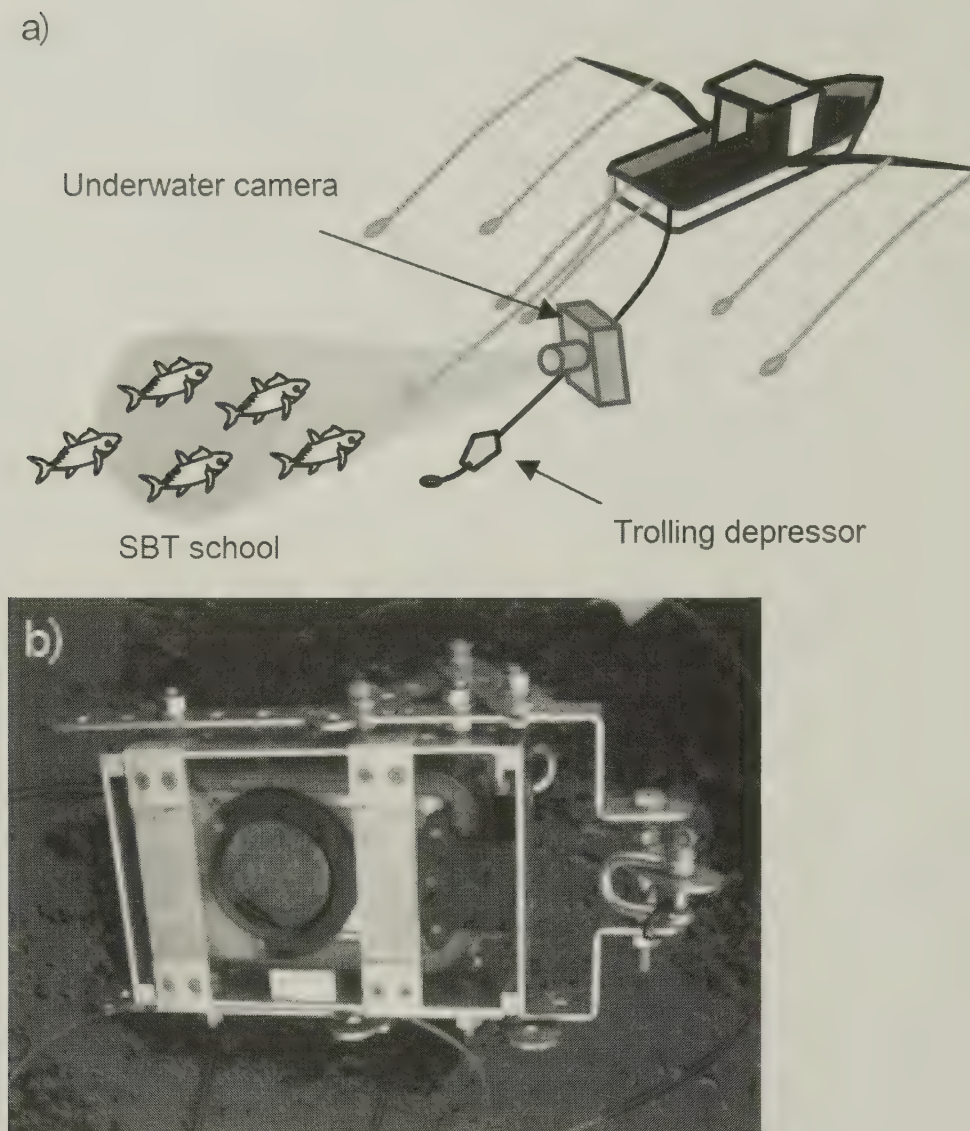


Fig. 2. Underwater camera and trolling gear configuration; a) Experimental gear arrangement for underwater video recording of fish behavior during trolling operations. Eight fishing lines were used, and an underwater camera was attached to one of them. The fishing hook that had been attached to this line was removed during video experiments. b) Underwater camera: a compact digital camera situated within a waterproof housing.

fishing lure behavior were frequently observed (86% of observed individuals) when hooking did occur.

When detection of SBT schools using video imaging and hooking events at 10 minute intervals was compared, the experimental durations were divided into 41 time blocks in total, and it was determined that trolling gear was only capable of detecting around half (55%) of the SBT schools detected by the underwater camera (Fig. 4); however, a few cases (10%) in which the underwater

camera could not detect SBT schools that had been detected by trolling gear did exist.

Discussion

Trolling is an effective method of locating fish schools; however, based on relative behaviors of target species and fishing gear used, trolling is classified as a passive fishing method (Bjorndal, 2009). Catching success with passive fishing gear generally

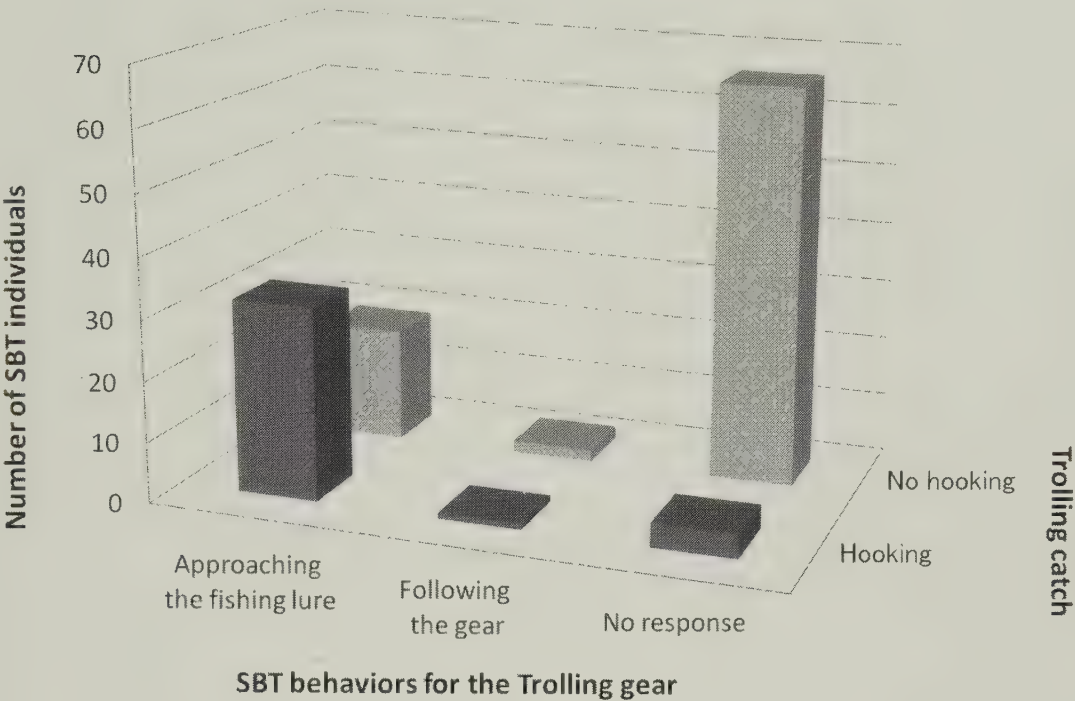


Fig. 3. Trolling catch events and SBT behaviors observed during associated time periods.

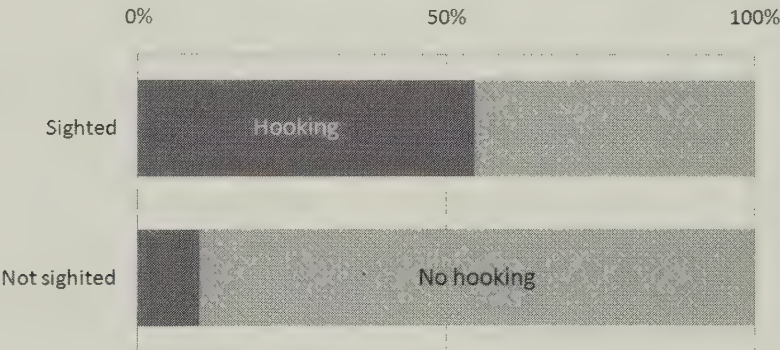


Fig. 4. Trolling hooking rate associated with SBT schools sighted/ not sighted by the underwater camera. Presence/absence of underwater sighting and troll hooking was summarized by 10 minutes time blocks. Number of time blocks for "Sighted" data and "Not-sighted" data were 11 and 30, respectively.

depends on movement of fish toward that gear, a characteristic that was clearly observed in the present study. The relationship between trolling catches and SBT behavior suggested that trolling catch efficiency was affected by fish behavior towards trolling gear. When SBT reacted to trolling gear by biting into lures but hooking did not occur, schools were not detected by trolling. This resulted in an underestimation of SBT schools during the trolling survey undertaken in the present study;

however, some SBT schools that were passed over without capture were detected by the underwater camera.

Fish behavior towards fishing gear can be affected by environmental variables (e.g. temperature, light, current, prey abundance, etc.), thus accommodation and standardization of catch efficiency and fishing methods should be considered when using a catch-based index for stock assessment (Stoner, 2004). Current knowledge regarding environmental

influences on trolling catch efficiencies remains inadequate. If any spatial-temporal variability exists in the environmental influences affecting trolling catches, adjustment of survey design and accommodation of survey results in order to obtain more reliable recruitment indices would be required. Actually, it was suggested that the distribution and migration pattern of juvenile SBT off the southern coast of Western Australia had interannual fluctuation (Fujioka *et al.*, 2010). The mechanisms of this fluctuation remain to be fully elucidated, but prey distribution and dynamics might be a key factor (Itoh *et al.*, 2011) that links oceanographic condition and trolling catch success. These environmental influences for fish behavior related to trolling catch should be considered in order to improve the SBT pre-recruitment monitoring survey, although fish behavior is one of the difficult factors to monitor through routine survey activity. Underwater camera system provides an option to detect the fish behavior which is independent from the catching success of fishing gear, and is a useful tool to improve our understanding about catching process and its influence on the monitoring index. This solution may be applied to other fish species which dependent on the fishing survey as well. Continuous monitoring during surveys and more comprehensive data regarding fish behavior are required in order to develop more accurate recruitment indices for stock assessment and habitat modeling. The needs could be fulfilled by the underwater camera system described in the present study.

The underwater camera examined in the present study was capable of detecting fish even if they weren't hooked, something that was not possible using traditional trolling methods alone. Observation using an underwater camera did not require fish to be caught, and was therefore determined to be a less damaging monitoring method for SBT. Due to their non-destructive nature, underwater cameras could prove valuable as a means of surveying vulnerable species or assessing protected marine areas (Assis *et al.*, 2007). Furthermore, observation without catching is also a more cost-effective means of surveying marine populations due the associated laborsaving and time saving characteristics. Results of the present study showed that underwater cameras

possessed superior detection capability for SBT schools when compared to trolling gear. The underwater camera system examined possessed a simple structure, was easy to maintain, and was capable of being towed at fast speeds (7-8 knots). These results suggested that underwater cameras could potentially serve as an alternative to the trolling gear currently used to monitor recruitment levels of SBT; however, future studies should control for any possible attractive effects of trolling gear on SBT by examining performance of underwater cameras when used independently.

Room for improvement in the underwater camera system examined still exists (e.g. angle of view, breadth and distance of vision, image stability, species identification, etc.). In fact, the underwater camera did not detect a few SBT schools that were detected by trolling gear, a short coming that could have been the result of a limited angle of view. Further trials using the underwater camera system described in the present study are required in order to resolve these issues and concurrently improve our understanding of the characteristics of SBT behavior associated with trolling. Application of underwater camera systems, as well as their continued improvement, will inevitably increase the quality of recruitment indices obtained from SBT pre-recruitment monitoring.

Acknowledgements

We would like to thank the captain and crew of F/V "St. Gerard M" for their help during SBT trolling recruitment surveys. We also thank Dr. Masashi Kiyota for his constructive comments on this manuscript. This study was financially supported by the Japan Fisheries Agency.

References

- Akiyama S., Yasuda K., Arimoto T., and Tawara Y., 1995: Underwater observation of fish behavior to trolling line. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **61** (5) , 713-716.
- Akiyama S., Ozawa K., and Shiode D., 2011: Underwater observation of fish behavior to artificial bait of trolling line by towed video

- camera. *Fish Engineering*, **48** (1), 1–5.
- Albert O. T., Harbitz A., and Høines Å. S., 2003: Greenland halibut observed by video in front of survey trawl: behavior, escapement, and spatial pattern. *Journal of Sea Research*, **50**, 117–127.
- Arreguín-Sánchez F., 1996: Catchability: a key parameter for fish stock assessment. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **6**, 221–242.
- Assis J., Narváez K., and Haroun R., 2007: Underwater towed video: a useful tool to rapidly assess elasmobranch populations in large marine protected area. *Journal of Coastal Conservation*, **11** (3), 153–157.
- Bjordal A., 2009: Regulation of fishing gears and methods. In: Cochrane, K. L. and Garcia, S. M. (Eds.). *A fishery manager's guidebook*, Second edition. pp.167–195.
- Cowx I. G., Harvey J. P., Noble R. A., and Nunn A. D., 2009: Establishing survey and monitoring protocols for the assessment of conservation status of fish populations in river Special Areas of Conservation in the UK. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, **19**, 96–103.
- Fujioka K., Kawabe R., Hobday A. J., Takao Y., Miyashita K., Sakai O., and Itoh T. 2010: Spatial and temporal variation in the distribution of juvenile southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii*: implication for precise estimation of recruitment abundance index. *Fisheries Science*, **76**, 403–410.
- Graham N., Jones E. G., and Reid D. G., 2004: Review of technological advances for the study of fish behavior in relation to demersal fishing trawls. *ICES Journal of Marine Science*, **61** (7), 1036–1043.
- Grant G. C., Radomski P., and Anderson C. S., 2004: Using underwater video to directly estimate gear selectivity: the retention probability for walleye (*Sander vitreus*) in gill nets. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **61**, 168–174.
- Hutchins J. B. and Pearce A. F., 1994: Influence of the Leeuwin current on recruitment of tropical reef fishes at Rottnest Island, Western Australia. *Bulletin of Marine Science*, **54** (1), 245–255.
- Itoh T., 2007: Introduction of sonar survey for southern bluefin tuna in Australia. In: *New technologies in Fisheries acoustics. Resource survey using scientific sonar.* (ed. by Iida K., Furusawa M., and Inada H.), pp. 86–95.
- Itoh T., Kurota H., and Takahashi N., 2009: Review of the CCSBT scientific program between 2001 and 2005. *CCSBT-ESC/0709/41*, pp.12.
- Itoh T., Kamps H., and Totterdell T., 2011: Diet of young southern bluefin than tuna *Thunnus maccoyii* in the south western coastal waters of Australia in summer. *Fisheries Science*, **77**, 337–344.
- Løkkeborg S., Bjordal Å., and Fernö A., 1989: Responses of Cod (*Gadus morhua*) and Haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) to baited hooks in the natural environment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **46**, 1478–1483.
- R Development Core Team, 2009: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Stoner A. W., 2004: Effects of environmental variables on fish feeding ecology: implications for the performance of baited fishing gear and stock assessment. *Journal of Fish Biology*, **65**, 1445–1471.
- Swartzman G., Winter A., Coyle K., Brodeur R., Buckley T., Ciannelli L., Hunt G., Ianelli J., and Macklin A., 2005: Relationship of age-0 pollock abundance and distribution around the Pribilof Islands, to other shelf regions of eastern Bering Sea. *Fisheries Research*, **74**, 273–287.
- van der Lingen C. D. and Huggett J. A., 2003: The role of ichthyoplankton surveys in recruitment research and management of South African anchovy and sardine. In: *The Big Fish Bang. Proceedings of the 26th Annual Larval Fish Conference.* (ed. by Browman H.I. and Skiftesvik A. B.), pp. 303–343.
- Walters C. and Pearse P. H., 1996: Stock information requirements for quota management systems in commercial fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **6**, 21–42.
- Wespestad V. G., Fritz L. W., Ingraham W. J., and Megrey B. A., 2000: On relationships between cannibalism, climate variability, physical transport, and recruitment success of Bering Sea

- walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*). ICES Journal of Marine Science, **57**, 272-278.
- Willis J., 2008: Simulation model of universal law of school size distribution applied to southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) in the Great Australian Bight. Ecological Modelling, **213**, 33-44.

Ontogenetic changes in schooling behavior and visual sensitivity during larval and juvenile stages in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*

Hiromu FUKUDA^{*1}, Shinsuke TORISAWA^{*2}, and Tsutomu TAKAGI^{*2}

Abstract : Behavioral traits under light and dark conditions were evaluated in larval and juvenile stage Pacific bluefin tuna (PBF), *Thunnus orientalis*. Light/dark conditions affected behavior of PBF throughout the growth stages examined in the present study (from 20 to 55 days post hatching). PBF displayed schooling behavior under light conditions from 27 days post hatching, while they did not display well-coordinated schooling behavior under dark conditions at any point during the present study. Under dark conditions, PBF swam slower than they did under light conditions. From 20 to 29 days post hatching, PBF demonstrated particularly slower swimming behaviors under dark conditions. Results of the present study suggested that both larval and juvenile PBF swam actively under light conditions, and that they formed coordinated schools from 27 days post hatching when exposed to an environment with sufficient visibility.

Key words : early life stage, lighting condition, Pacific bluefin tuna, schooling behavior, swimming speed

Introduction

Pacific bluefin tuna (PBF), *Thunnus orientalis*, migrate within a wide range, from the western to eastern Pacific, and dive to depths of 120 m below the water surface. These behaviors are made possible by their large body size, strong swimming ability, and physiological traits such as the thermal regulation and visual sensibilities. Various histological and behavioral studies that examined tuna behavior in relation to vision have demonstrated that PBF possess a well-developed vision, which is considered to be their predominant sensory system (Kawamura *et al.*, 2003). Since vision is the predominant sensory system in PBF, their behavior is strongly affected by both light intensity and the differences between light conditions during day and night (Torisawa *et al.*, 2007; Fukuda *et al.*, 2010; Kitagawa *et al.*, 2004). Therefore, developing a greater comprehension of the relationship between behavioral traits and vision in PBF could improve

our understanding that how PBF select the environments that they inhabit.

PBF, as well as other pelagic fishes, exhibit typical schooling behavior throughout the majority of their lives (Fukuda *et al.*, 2010). Since forming a polarized school requires precise recognition of the motions of neighboring fish, previous studies have evaluated sensory perception of fishes using variables associated with schooling (Miyazaki *et al.* 2000, Torisawa *et al.*, 2011). In the present study, behavioral traits associated with schooling in larval and juvenile PBF of different ages were evaluated under light and dark conditions. Schooling variables were compared among different age groups at different light intensities in order to investigate the development of these behaviors as well as the effect of light and dark conditions during early life stages in PBF.

2013年9月5日受理 (Received on September 5, 2013)

^{*1} National Research Institute of Far Seas Fisheries, Fisheries Research Agency, 5-7-1 Orido, Shimizu, Shizuoka 424-8633, Japan

^{*2} Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kinki University, 3327-204 Naka-machi, Nara 631-8505, Japan

Materials and Methods

Larval and juvenile PBF used in behavioral experiments were obtained from the Oshima station of the Fisheries Laboratory at Kinki University. The behaviors of 10 fish of different ages (20, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 36, 40, and 55 days post hatching (dph)) were examined. In order to regulate conditions in behavioral experiments, such as lighting and water temperature, experiments were conducted in circular tanks (diameter: 0.35 m for 20-27 dph fish, 0.66 m for 29-31 dph fish, 0.90 m for 33 dph fish, and 1.86 m for 36-55 dph fish) situated in a dark room. Illumination was achieved using a halogen light, which provided both dark (<0.01 lx) and light (300 lx) conditions. A digital video camera placed above experimental tanks was used to record the behavior of ten fish for 20 minutes under each experimental condition. Night recording functions of the digital video camera and infrared light-emitting diodes (LEDs) were used to obtain images under dark conditions. During video recording, water exchange and aeration were stopped to prevent stimulation due to water movement. Because the three-dimensional observations would have been difficult owing to the small size and transparent body of the larvae especially in the dark conditions, a shallow water depth to restrict their swimming behavior into the two-dimensional space was maintained.

Using the video images obtained, movements of the 10 individuals examined were digitized in order to obtain time series coordinate data at 0.1 s intervals for periods of 2 min. Behavior of each fish was evaluated using 3 indices: swimming speed, nearest neighbor index (I_{NN}) and separation swimming index (I_{SS}). I_{NN} has been established as an index of compactness of a fish group (Fukuda *et al.*, 2010) and represents a proportion of nearest neighbor distance (D_{NN}) to expected D_{NN} when fish are distributed randomly within tanks. I_{NN} is expected to be less than one when each individual is positioned close to neighboring fish. I_{SS} is an index of parallel swimming in a fish group (Nakayama *et al.*, 2004). I_{NN} was calculated at 2.0 s intervals for all individuals in the tank ($n=600$ in each experimental condition). In order to calculate I_{SS} , swimming vectors of an individual and its nearest neighbor

were estimated over 1.0 s. Distances between paired swimming vectors were then divided by mean absolute values of the two vectors. I_{SS} ranges from zero, when each individual is swimming exactly parallel to its neighbor, to two, when each individual is swimming in the direction opposite that of its neighbor. A mean I_{SS} value when the angle between swimming vectors is between 0 and 180° is used as an expected value (1.27) when each individual swims in a random direction. I_{SS} of 10 individuals were calculated at 10 s intervals for all individuals in the tank ($n=120$ in each experimental condition). Swimming speeds (mm s^{-1}) of 10 individuals were measured over 0.3 s at 2.0 s intervals ($n=600$ in each experimental condition) and scaled by their body length (BL s^{-1}). The detailed information about the calculation of I_{SS} and I_{NN} were described in Nakayama *et al.* (2004) and Fukuda *et al.* (2010), respectively.

Results

PBF used in the present study ranged from 9.5 mm (20 dph) to 146 mm (55 dph) in average body length (BL). This growth was similar to that reported by Miyashita *et al.* (2001). The metamorphic change from the larval to juvenile stage was considered to complete at 25 dph (22.7 mm BL). Swimming speed of juveniles increased rapidly from 25 to 40 dph at a rate that exceeded that of body growth (body length: 26.2 to 80.1 mm, swimming speed: 34.4 to 270.7 mm

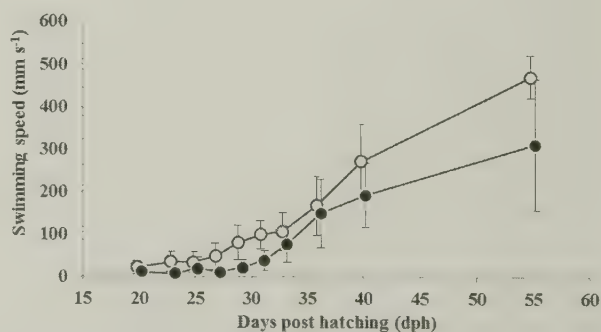


Fig. 1. Changes in mean swimming speed during the experimental period. Vertical bars indicate standard deviations. White and black circles indicate swimming speed under light and dark conditions, respectively.

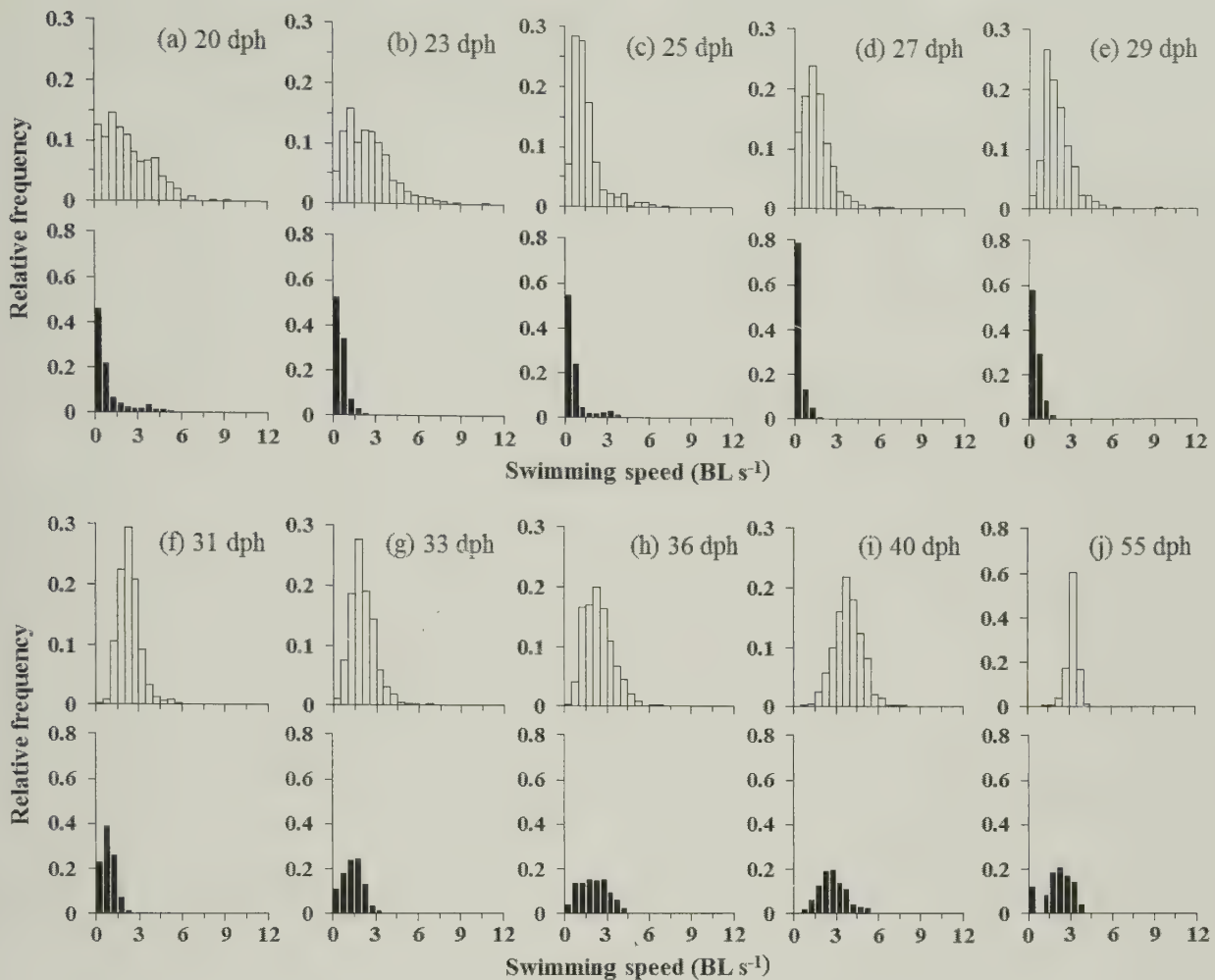


Fig. 2. Relative frequency distributions of swimming speed scaled by body length of fish ($n=600$ in each case). White and black bars indicate light (300 lx) and dark (0.01 lx) conditions, respectively.

s^{-1}) (Fig. 1). Under light conditions, 20–25 dph PBF demonstrated intermittent sprinting swimming at speeds ranging from 0 to 8 $BL s^{-1}$ (Fig. 2a–c). After 27 dph, PBF changed their mode of swimming from intermittent sprinting to continuous cruising (Fig. 2d–j). Results indicated that the majority of age groups after 27 dph exhibited peak swimming speeds ranging from 2 to 4 $BL s^{-1}$ (Fig. 2). Under dark conditions, PBF did not actively swim and mode values of swimming speed were approximately zero at 20–29 dph (Fig. 2a–e). Specimens examined under dark conditions after 31 dph were observed swimming continuously; however, they still exhibited swimming speeds that were slower than those observed under light conditions (Fig. 2f–j).

From 25 dph onward, I_{SS} were significantly lower than the expected value (1.27) for randomly

swimming fish ($P < 0.05$, $n = 120$; Steel test), and both of the I_{NN} and I_{SS} decreased from 25 dph onwards (Fig. 3, Fig. 4). These results indicated that the ontogeny of school formation occurred around 27 dph in PBF; however, PBF did not demonstrate parallel swimming or cohesive aggregation under dark conditions even after 27 dph.

Discussion

Metamorphosis from the larval stage to the juvenile stage was completed at around 25 dph in experimental fish. After this point, fish began forming schools, which indicated that timing of the onset of schooling was synchronized with the completion of metamorphosis from larvae to juveniles. These results were consistent with those of

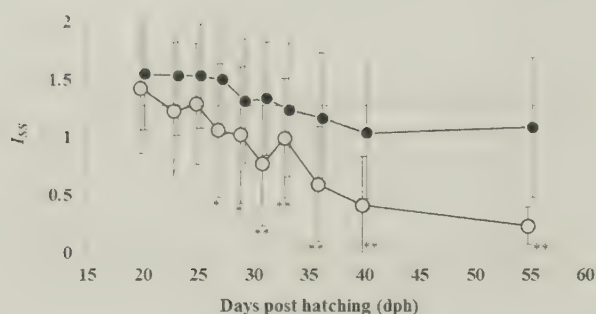


Fig. 3. Changes in separation swimming index during the experimental period. Vertical bars indicate standard deviations. Empty and solid circles indicate SSI under light and dark conditions, respectively. Dotted line indicates the expected value for randomly swimming fish (1.27), and asterisks below bars indicate values significantly smaller than that value (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; Steel multiple comparisons).

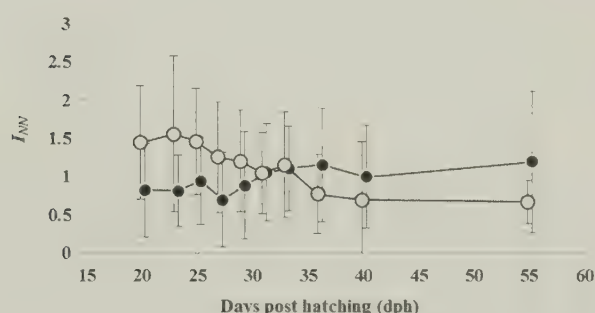


Fig. 4. Changes in nearest neighbor index during the experimental period. Vertical bars indicate standard deviations. Empty and solid circles indicate swimming speed under light and dark conditions, respectively.

previous studies, which demonstrated ontogenetic changes in schooling behavior in other species (Masuda & Tsukamoto, 1998; Masuda *et al.*, 2003; Nakayama *et al.*, 2003; 2007). Fish examined in the present study did not form well-coordinated schools at 55 dph under dark conditions. This indicated that fish depended on their vision to perceive the motion of neighbouring fish when schooling.

Larval and early juvenile stage PBF did not actively swim under dark conditions. Takashi *et al.* (2006) demonstrated that PBF larvae expanded their swim bladder at night, a behavior that decreased their relatively high body density. It was likely that PBF larvae and early juveniles examined in the

present study also expanded their swim bladders under dark conditions instead of actively swimming in order to avoid sedimentation caused by their negative buoyancy.

References

- Fukuda H., Torisawa S., Sawada Y., and Takagi T., 2010: Developmental changes in behavioral and retinomotor responses of Pacific bluefin tuna on exposure to sudden changes in illumination. *Aquaculture*, **305**, 73–78.
- Fukuda H., Torisawa S., Sawada Y., and Takagi T., 2010: Ontogenetic changes in schooling behaviour during larval and early juvenile stages of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Journal of Fish Biology*, **76**, 1841–1847.
- Kawamura G., Masuma S., Tezuka N., Koiso M., Jinbo T., and Namba K., 2003: Morphogenesis of sense organs in the bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *The Big Fish Bang*.
- Kitagawa T., Kimura S., Nakata H., and Yamada H., 2004: Diving patterns of immature, feeding Pacific bluefin tuna (*Thunnus thynnus orientalis*) in relation to season and area: the East China Sea and Kuroshio-Oyashio transition region. *Fisheries Oceanography*, **13**(3), 161–180.
- Masuda R. and Tsukamoto K., 1998: The ontogeny of schooling behaviour in the striped jack. *Journal of Fish Biology*, **52**, 483–493.
- Masuda R., Shoji J., Nakayama S., and Tanaka M., 2003: Development of schooling behavior in Spanish mackerel *Scomberomorus niphonius* during early ontogeny. *Fisheries Science*, **69**, 772–776.
- Miyazaki T., Shiozawa S., Kogane T., Masuda R., Maruyama K., and Tsukamoto K., 2000: Developmental changes of the light intensity threshold for school formation in the striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Marine Ecology Progress Series*, **192**, 267–275.
- Miyashita, S., Sawada, Y., Okada, T., Murata, O. & Kumai, H., 2001: Morphological development and growth of laboratory-reared larval and juvenile *Thunnus thynnus* (Pisces: Scombridae). *Fishery Bulletin*, **99**, 601–616.
- Nakayama S., Masuda R., Shoji J., Takeuchi T., and

- Tanaka M., 2003: Effect of prey items on the development of schooling behavior in chub mackerel *Scomber japonicus* in the laboratory. Fisheries Science, **69**, 670–676.
- Nakayama S., Masuda R., and Tanaka M., 2007: Onsets of schooling behavior and social transmission in chub mackerel *Scomber japonicus*. Behavioral Ecology and Sociobiology, **61**, 1383–1390.
- Takashi T., Kohno H., Sakamoto W., Miyashita S., Murata O., and Sawada Y., 2006: Diel and ontogenetic body density change in Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel), larvae. Aquaculture Research, **37**, 1172–1179.
- Torisawa S., Takagi T., Fukuda H., Ishibashi Y., Sawada Y., Okada T., Miyashita S., Suzuki K., and Yamane T., 2007: Schooling behavior and retinomotor response of juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* under different light intensities. Journal of Fish Biology, **71**, 411–420.
- Torisawa S., Fukuda H., Suzuki K., and Takagi T., 2011: Schooling behaviour of juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* depends on their vision development. Journal of Fish Biology, **79**, 1291–1303.

水産総合研究センター研究報告

Bulletin of Fisheries Research Agency

編集委員会

編集委員長 中山一郎

編集委員 鈴木満平, 岸田 達, 横山雅仁, 中田 薫, 中島員洋, 秋山秀樹, 小谷祐一,
川崎 清, 檜山義明, 本多 仁, 北村章二, 與世田兼三, 村田昌一, 渡部俊広,
堀川博史

平成26年 3 月31日 発行

発行所 独立行政法人 水産総合研究センター

〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3 クイーンズタワー B 15階

Fisheries Research Agency

Queen's Tower B 15F, 2-3-3, Minato mirai, Nishi-ku, Yokohama, Kanagawa.

220-6115 Japan

<http://www.fra.affrc.go.jp>

発行者 松里壽彦

印刷所 日昇印刷株式会社

ISSN 1346-9894

BULLETIN OF FISHERIES RESEARCH AGENCY

No. **38**
March 2014

Bull. Fish. Res. Agen.

CONTENTS

Doctoral Thesis

- Study on the Technology of the Culture and Spawning Control of Kuruma Prawn *Marsupenaeus japonicus*
Kazutaka Sakiyama 1

General Remarks

- Special Lecture of Mathematics for Fish Stock Analysis 43
Tatsuro AKAMINE

Symposium

Reports on Advancing Comparative Ecological Studies of Early Life History and Recruitment Strategy of Bluefin Tunas and Related Species, and Effects of Environmental Changes on Fluctuations of Oceanic Top Predators

- A. García, D. Cortés, J. Quintanilla, F. Alemany, L. Quintanilla, J.M. Rodríguez,
T. Ramírez, S. Sponaugle, K. Satoh, M. Masujima, Y. Tanaka, M. Okazaki, N. Suzuki,
T. Tanabe, K. Nohara, W. Doi, H. Ashida, T. Kameda, Y. Aonuma, B. Muhling,
Y. Liu, S-K. Lee, J. Lamkin, W. Ingram, R. Laiz-Carrión, J.M. Quintanilla, A. Pérez-Torres,
J.M. Logan, E. Rodríguez-Marín, N. Goni, S. Barreiro, H. Arrizabalaga, W. Golet,
M. Lutcavage, Y. Kanaji, T. Miyashita, S. Yonezaki, M. Kiyota, Y. Kato, T. Wakabayashi,
M. Sakai, K. Segawa, O. Sakai, T. Itoh, H. Fukuda, S. Torisawa, T. Takagi 61